

Aus der I. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)

Die Einwirkung von Fluocortolon auf menschliches Knochenmark in vitro

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans Martin Koch
aus Ravensburg

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0067

**Aus der I. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)**

Die Einwirkung von Fluocortolon auf menschliches Knochenmark in vitro

**Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Hans Martin Koch
aus Ravensburg**

Aus der I. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Köpenick
(Führer: Oberarzt Professor Dr. med. H. Kirschner)

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr. med. H. Kirstädter

Die Einwirkung von Fluocortolon
auf menschliches Knochenmark in vitro

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades
an der Freien Universität Berlin
von
Hans Martin Koop



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14. 4. 1976

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	4
Fragestellung	6
Methode	8
Ergebnisse	16
Statistische Auswertung	58
Zusammenfassung der Ergebnisse	81
Diskussion	83
Zusammenfassung der Arbeit	90
Literaturverzeichnis	91

Einleitung

Extrakte aus Nebennierenrinde wurden schon vor 45 Jahren therapeutisch angewandt. Die Struktur der wirksamen Substanzen war damals noch unbekannt.

In den Jahren 1936 bis 1938 gelang es REICHENSTEIN in der Schweiz und KENDALL in den Vereinigten Staaten, die Konstitution der Nebennierenrindenhormone aufzuklären.

Es handelte sich um Steroide, denen der C_{21} -Kohlenwasserstoff Pregnan als Grundkörper gemeinsam ist. REICHENSTEIN fand das 11-Desoxycorticosteron und das 11-Desoxycortisol ("Substanzen Q und S"), KENDALL klärte die Strukturen von Corticosteron, Cortison und Cortisol auf ("Compounds B, E und F") (1). 1942 begannen verschiedene Arbeitsgruppen mit Versuchen zur Synthese des Cortisons, die SARETT 1946 gelang. Klinische Prüfungen erbrachten Erfolge bei rheumatoider Arthritis. HERSHBERG zeigte 1955, daß die durch mikrobielle Behandlung gewonnenen 1-Dehydro-Derivate von Cortisol und Cortison, das Prednison und Prednisolon, eine stärkere therapeutische Wirksamkeit bei geringeren Nebenwirkungen besaßen. Damit wurde eine systematische Suche nach weiteren Abkömmlingen dieser Stoffklasse eingeleitet. Einer Arbeit aus dem Jahre 1967 zufolge sind bis dahin rund 1.500 Analoge entwickelt worden (8).

Im Zuge dieser Forschungsarbeiten wurde 1960 eine 16-alpha-Methylgruppe in das 1-Dehydrocorticosteron eingeführt, welches als solches eine geringe therapeutische Wirksamkeit besitzt.

Substitution von Fluor in 6-alpha-Stellung führte zu der Substanz Fluocortolon (6-alpha-Fluor-16-alpha-Methyl-1-Dehydrocorticosteron) (19).

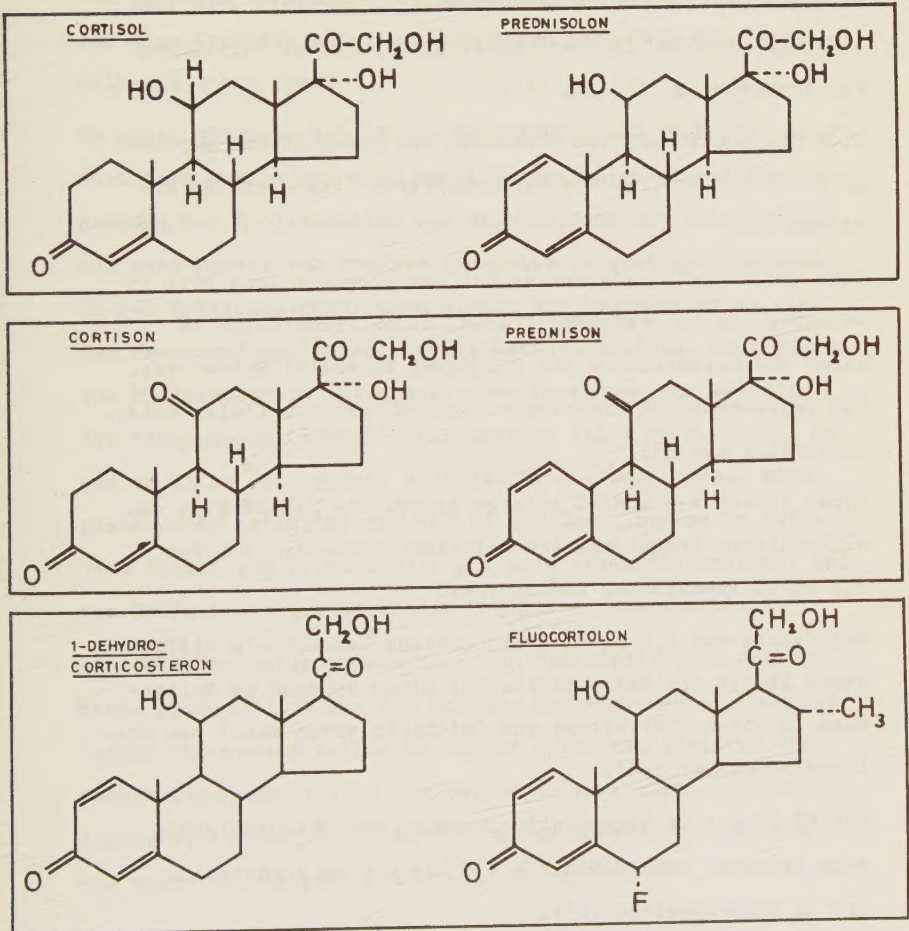


Abb.:1

Fragestellung

Klinische Untersuchungen ergaben, daß die therapeutische wirksamkeit des neuen Corticoids etwa der des Prednisolons entspricht. Übereinstimmend wird hervorgehoben, daß die Nebenwirkungen der Fluocortolontherapie geringer sind und die Cushing-Schwellendosis höher liegt als bei Verwendung von Prednisolon (13, 14, 15).

Über die Auswirkung von Steroiden auf menschliches Knochenmark und auf solches von Versuchstieren liegen einige Arbeiten vor.

Eine Proliferationsförderung der Granulopoese fand BOLL in menschlichen Knochenmarkkulturen, denen Prednisolon in einer Endkonzentration von 250 $\mu\text{g/ml}$ zugesetzt worden war. Die Ergebnisse mit niedrigeren Konzentrationen fielen unterschiedlich aus (3).

Einer Arbeit von NOWELL zufolge gingen die Mitoseraten von menschlichen Granuloblasten bei einer Konzentration von 2,0 $\mu\text{g/ml}$ Prednisolon zurück (24).

Bei Zusatz von 0,5 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison beobachtete RAPPAY einen Abfall der Mitosezahlen bei einem Versuch an Rattenmark in vitro. Der Effekt von Colchicin wurde dabei von Cortison verstärkt (25).

MÜLLER fand eine Regenerationshemmung der Granuloblasten beim Menschen nach Gaben von 1,5 bis 4,0 mg Prednisolon pro kg Körpergewicht (23).

Eine Proliferationshemmung der Erythropoese und der Granulopoese fand CARDINALI im Knochenmark des Hamsters bei Konzentrationen von 25, 35 und 100 mg/kg Prednisolon (5) und HUNSTEIN im Mark der Ratte bei insgesamt 14 bzw. 2 mg/100 g des gleichen Zusatzes (16). ELVES (9) und TORMEY (30) stellten eine Verminderung der Lymphozyten nach Gabe von Prednisolon in vitro fest.

In einer jüngeren Arbeit von WEISSENFELS und BOLL (32) zeigte sich nach Zusatz von 0,25 µg/ml Triamcinolon eine stärkere Hemmung der Proliferation von Erythropoese und Granulopoese als nach Zusatz von Prednisolonacetat in gleicher Dosierung. In den Triamcinolonkulturen nahmen die Lymphozyten ab, in den Prednisolonkulturen nur die Retikulumzellen. Nach Zugabe von Prednisolon in therapeutischen Dosen war die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase (aLP) in vivo (27, 28) und in vitro (6) erhöht. WEISSENFELS und BOLL fanden eine gesteigerte Aktivität der aLP in der Granulopoese in vitro nach Zusatz von Triamcinolon und nach Prednisolonacetat; bei den Retikulumzellen waren die Ergebnisse uneinheitlich.

Die folgende Untersuchung soll nun feststellen, ob die Substanz Fluocortolon auf die Reifung und Regeneration menschlicher Knochenmarkzellen in Kultur unter den gleichen Versuchsbedingungen und in der selben Konzentration dem Medium zugesetzt von der gleichen oder einer anderen Wirkung ist wie Prednisolonacetat bzw. Triamcinolon.

Methode

Das für die Kulturen verwendete Knochenmark wird durch die Punktion des Sternums von Patienten gewonnen. Von einem Teil des Sternalpunktates werden Sofortausstriche angefertigt, die nach PAPPENHEIM gefärbt werden.

Der Ansatz der Kulturen folgt der Methode von CARREL, modifiziert nach BOLL. Aus 5 Teilen Plasma, 3 Teilen Eigens Serum, 1 Teil CORHORMON^R, dreifach verstärkt (wir verdanken die Ampulle der Fa. Homburg); und bei der Hälfte der Kulturen 1 Teil Fluocortolonlösung, wird unter sterilen Bedingungen ein Koagulum auf einen Objektträger gesetzt. Hierauf wird ein Bröckchen Knochenmark gelegt, welches mit einem Tropfen Serum bedeckt wird. Bei Zusatz von Fluocortolon beträgt dessen Endkonzentration 0,25 µg/ml. Darüber wird mit Vaseline ein hohlgeschliffenes Deckglas geheftet, worauf die Kultur umgedreht und der Rand mit Hartparaffin verschlossen wird.

Die Kulturen werden bei einer Temperatur von 37° Celsius bebrütet. Nach 24, 48, 72 oder 96 Stunden Bebrütungsdauer werden Ausstriche angefertigt. Auf diese Weise gewinnt man für die Zelldifferenzierung pro Versuch 7 Präparate: Den Sofortausstrich und jeweils einen Ausstrich der Fluocortolonkultur und einen der Kontrollkultur zu den verschiedenen Stichproben. Die Präparate für die Zelldifferenzierung werden nach PAPPENHEIM gefärbt.

Für die zusätzliche Bestimmung der Aktivität der alkalischen

Leukozytenphosphatase werden weitere Ausstriche hergestellt, die mit Hilfe der Azo-Kupplungsreaktion nach KAPLOW (18), modifiziert nach MERKER und HEILMEYER (21) angefärbt werden: Luftgetrocknete Präparate werden mit 4%-iger Formollösung fixiert und darauf mit H_2O abgespült.

Aus 35 mg Natrium-alpha-Naphtylphosphat, 70 mg Variaminblausalz B conc. und 70 ml 0,1 normalem Veronal-HCl-Puffer nach SPANNHOFF wird ein Substrat hergestellt, dessen pH-Wert zwischen 9,2 und 9,6 liegt.

Bei 7° Celsius werden die vorbehandelten Präparate in dieser Mischung eine Stunde lang inkubiert. Nach Spülung mit H_2O erfolgt Gegenfärbung mit Hämalaulösung nach MAYER, die 10 Minuten andauern soll; danach wird erneut mit H_2O gespült.

Die abgetrockneten Ausstriche werden mit Glyceringelatine überschichtet und mit einem zweiten Objektträger luftblasenfrei verschlossen. Dadurch wird ein Herauslösen der Farbniederschläge bei Betrachten der Präparate mit Immersionsöl vermieden.

Die Einteilung der Knochenmarkszellen wurde in den nach PAPPENHEIM gefärbten Präparaten nach folgenden Kriterien vorgenommen:

Proerythroblast: Runder Kern mit feinkörniger Struktur, dunkelblauer Zytoplasmasaum.

Basophiler Erythroblast: Kern gröber strukturiert, Zytoplasma stärker basophil als beim Proerythroblasten. Zellgröße wechselnd.

Polychromatischer Erythroblast: Kern nimmt an Dichte zu, Zelle kleiner als die Vorstufen. Zytoplasma grau bis blau.

Oxyphiler Erythroblast: Kernstruktur gerade noch zu erkennen. Zytoplasma hat die Farbe der Erythrozyten.

Reifer Erythroblast: Kern ist homogen schwarz, scharf begrenzt. Zellgröße hat weiter abgenommen. Farbe des Zytoplasma wie beim Erythrozyten.

Myeloblast: Undeutlich-verwaschene Struktur des Kerns, schmaler dunkel- bis hellblauer Zytoplasmasaum.

Fromyelozyt: Azurophile Granula. Kern aufgelockert, Kern-Plasma-Relation etwa 1:3.

Myelozyt: Kern gegenüber Vorstufe verdichtet, zeigt typische Eindrückung. Zytoplasma bei den neutrophilen Formen hellblau.

Metamyelozyt: Einbuchtung des Kerns stärker als bei der Vorstufe. Zytoplasma enthält neutrophile Granula.

Stabkernige: Kern hufeisenförmig gebogen bis annähernd stabförmig gestreckt. Zytoplasma wie Metamyelozyt.

Segmentkernige: Kern weist zwei bis drei Einschnürungen auf, deren Dicke mindestens ein Drittel des Kerndurchmessers beträgt. Oft nur als feine Fäden erkennbar. Zytoplasma wie bei Vorstufe. Über- und untersegmentierte Formen kommen vor.

Eosinophile und basophile Formen kommen bei den Myelozyten und den Segmentkernigen vor. Eosinophile haben rötliches Zytoplasma und eosinophile Granulation, basophile weisen eine stark dunkelblaue Granulation auf, die den Kern ganz oder teilweise überlagern kann.

Retikulumzellen: Runder bis ovaler Kern mit lockerer Struktur und Nukleoloen. Zytoplasma schwer zu erkennen.

Plasmazellen: Kern meist außerhalb des Zentrums mit typischer Radspeichenstruktur. Kern-Plasma-Relation etwa 1:4. Zytoplasma dunkelblau. Zellen mit rötlichem Zytoplasma kommen vor ("geflamte Plasmazellen").

Lymphoblast: Von Myeloblast sehr schwer zu unterscheiden, Kernstruktur ist verwaschener, Zytoplasma heller.

Lymphozyt: Kern dunkel, wolkig, oft Tropfenform. Zytoplasma schwach basophil, sitzt dem Kern häufig als Haube auf.

Promonozyt: Eingedellter, lockerer Kern, rauchgraues Zytoplasma.

Monozyt: Kern stärker gebuchtet als bei der Vorstufe, Zytoplasma von gleicher rauchgrauer Farbe wie bei der Vorstufe.

Megakaryozyt: Zelle fällt bereits bei Lupenvergrößerung durch ihre Größe auf. Kern mehrfach gelappt, Zytoplasma stark basophil.

Für die Differenzierung der Zellen in den nach KAPLOW gefärbten Ausstrichen zur aLP-Beurteilung können Basophilie und Granulation nicht herangezogen werden. Stattdessen sind Kernform und Struktur, Kern-Plasma-Verhältnis und Zellgröße die Kriterien der Wahl. In den Zellen der weißen Reihe, vor allem in den jüngeren Formen und ebenso in den Retikulumzellen bilden sich infolge des oben angegebenen Verfahrens Niederschläge von gelber bis braunschwarzer Farbe. Auch Fibroblasten und Kapillarendothelien zeigen solche Anfärbung.

Die Auswertung der aLP-Präparate erfolgte nach dem von MERKER und HEILMEYER (21) angegebenen Verfahren, wonach die Intensität und die räumliche Ausbreitung des Farbniederschlags mit Zahlen von 0 bis 5 charakterisiert werden:

0 = Kein Niederschlag

1 = Gelblichbrauner Niederschlag im Zellzentrum

2 = Ausbreitung dieses Niederschlages zur Peripherie

3 = Granuläre Niederschläge in der ganzen Zelle

4 = Intensivierung der Färbung zu braunschwarzen Flecken

5 = Gesamte Zelle ist von dunkelbraunem bis schwarzem

Niederschlag bedeckt, Kern ist nicht mehr zu erkennen-.

Als Maß für die Aktivität der aLP wird der für den Vergleich geeignete aLP-Index nach DURING (7) verwendet. Diesen Index erhält man für eine bestimmte Reifestufe durch folgenden Rechengang: Die Anzahl der in den Ewertungskategorien 0 bis 5 beobachteten Zellen wird jeweils mit der die Färbeintensität charakterisierenden Zahl multipliziert. Man addiert die erhaltenen Produkte, multipliziert mit 100 und dividiert durch die Anzahl ausgewerteter Zellen der betreffenden Reifestufe. Für jeden Ausstrich werden daneben Gesamtindices getrennt nach Granulopoese und Retikulumzellen errechnet: Der aLP-Index einer Zellart wird mit der Gesamtanzahl der beobachteten Zellen dieser Reifestufe multipliziert. Die Produkte werden addiert und die Summe dividiert man durch die Gesamtzahl der beobachteten Granulozyten, bzw. Retikulumzellen. Das Ergebnis stellt den aLP-Gesamtindex dar.

Pro Stichprobe wurden in den nach PAPPENHEIM gefärbten Präparaten 2.000, zur Bestimmung der Aktivität der aLP 1.000 Zellen pro Ausstrich differenziert. Die Präparate wurden dafür auf solche Stellen durchgemustert, an denen die Zellen dicht, aber nicht übereinander gelagert waren. Gleichzeitig mit der Differenzierung nach Zellarten wurde die Anzahl und die Phasen der in Teilung befindlichen Zellen notiert.

Der rote Mitoseindex (rMI) wurde berechnet in Promille aller roten teilungsfähigen Zellen, das heißt aller mit Ausnahme der reifen Erythroblasten.

Der weiße Mitoseindex (wMI) wurde berechnet in Promille aller weißen teilungsfähigen Zellen absteigend bis einschließlich der Metamyelozyten.

Der G/E-Index wurde bestimmt aus dem Quotienten der Anzahl weißer Zellen einschließlich der Monozyten und der Anzahl aller roten Zellen.

Zur Aufstellung der karyologischen Kurve wurde die Gesamtzahl aller beobachteten Mitosen unserer Versuche für die Erythropoese und die Granulopoese jeweils gleich 100 % gesetzt. Auf der Abszisse wurden die einzelnen Phasen eingetragen, auf der Ordinate die zugehörigen prozentualen Anteile.

Zur graphischen Darstellung der Reifung benutzten wir ein Koordinatensystem, in welchem die Zellarten, auf der oberen Abszisse beginnend, additiv eingetragen werden. Dabei steht

die älteste Zellart ganz links, die reifste ganz rechts. Die Zeit wird auf der Ordinate eingezeichnet. Durch Verbinden der Punkte, die dem prozentualen Anteil der einzelnen Zellarten zu den verschiedenen Zeiten der Stichprobenentnahmen entsprechen, erhält man die Reifungskurven. In den Graphiken entsprechen die durchgezogenen Linien (——) den Kontrollen, die unterbrochenen (— —) den Zusatzkulturen. Auf der linken Seite der Abbildungen stehen die Reifungskurven der Erythropoese, auf der rechten Seite die der Granulopoese.

Die folgenden Abkürzungen (für die Anteile in %) werden gebraucht:

- O - PE = Proerythroblasten
- PE - bE = basophile Erythroblasten
- bE - pE = polychromatische Erythroblasten
- pE - oE = oxyphile Erythroblasten
- oE - rE = reife Erythroblasten

- O - Mb = Myeloblasten
- Mb - Pmy = Promyelozyten
- Pmy - My = neutrophile Myelozyten
- My - eM = eosinophile Myelozyten
- eM - bM = basophile Myelozyten
- bM - PM = Promonozyten
- PM - MM = Metamyelozyten
- MM - St = Stabkernige
- St - Sg = neutrophile Segmentkernige

Sg - eSg = eosinophile Segmentkernige

eSg - bSg = basophile Segmentkernige

bSg - Mon = Monozyten

Die statistische Auswertung nahmen wir nach dem χ^2 -Verfahren vor, einer Methode des Häufigkeitsvergleichs. Der Unterschied zweier zu vergleichender Stichproben ist danach dann ausreichend von Null verschieden und damit signifikant im Sinne der Statistik, wenn der tabellarisch zu ermittelnde Wahrscheinlichkeitswert p unterhalb einer für jeden Vergleich vorher willkürlich festzusetzenden Grenze liegt. In dieser Arbeit wurde der Grenzwert für p auf 0,01 festgelegt, das heißt bei Werten für p die kleiner sind als 0,01 sprechen wir von Signifikanz. Der Wahrscheinlichkeitswert p wird einer Tabelle oder einer Graphik entnommen; als Parameter werden die Anzahl der Freiheitsgrade und der Wert für χ^2 benötigt. Die Anzahl der Freiheitsgrade ergibt sich aus der Menge der dem Vergleich zugrunde liegenden Merkmale, das χ^2 wird berechnet nach der Formel

$$\chi^2 = \frac{(B-E)^2}{E}$$

wobei die Summe, B den Beobachtungswert und E den zu berechnenden Erwartungswert bedeuten.

Ergebnisse

Versuch 1 mit dem Knochenmark des Patienten L., B.-Ch.

Klinische Diagnose: Rheumatisches Fieber

Therapie am Tage vor der Sternalpunktion: 6,0 g Salizell^R p.o.

Die Reifungskurve der Erythropoese (Abb.2) zeigt nach 24 Stunden im Fluocortolonpräparat eine Abnahme der Proerythroblasten und der basophilen Erythroblasten. Die polychromatischen haben dagegen zugenommen. Die reifen Zellen zeigen keine Veränderung, während sie im Kontrollausstrich zugenommen haben. Nach 48 Stunden kommt es in der Fluocortolonkultur zu einer leichten Zunahme der reifen Erythroblasten. Obwohl der Prozentsatz der Reifen in der Kontrolle zurückgeht, liegt er noch höher als im Fluocortolonausstrich. Nach 96 Stunden Bebrütungsdauer sind beide Kulturen geringgradig ausgereift. Der Anteil der nicht mehr teilungsfähigen Zellen ist im Fluocortolonpräparat geringer als im Kontrollausstrich.

Die Mitoseindices der roten Reihe gehen mit fortschreitender Bebrütungszeit in beiden Kulturen zurück. In der Kontrollkultur liegen sie stets höher als in den Zusatzpräparaten.

In der Granulopoese (Abb.2) haben nach 24 Stunden die teilungsfähigen Zellen in beiden Kulturen zugenommen. Im Fluocortolonansatz sind deutlich weniger Promyelozyten vorhanden als in der Kontrollkultur, wogegen die Myelozyten stärker zugenommen haben. Im Kontrollausstrich werden mehr reife Zellen beobachtet als im Fluocortolonpräparat.

Im Fluocortolonansatz steigt der Anteil der Promyelozyten nach 48 Stunden, der der Myelozyten geht zurück. In der Kontrollkultur steigt der Prozentsatz der Myelozyten an. Nach 96 Stunden Bebrütungszeit zeigt sich, daß der Anteil der reifen Zellen in der Kontrolle noch immer überwiegt.

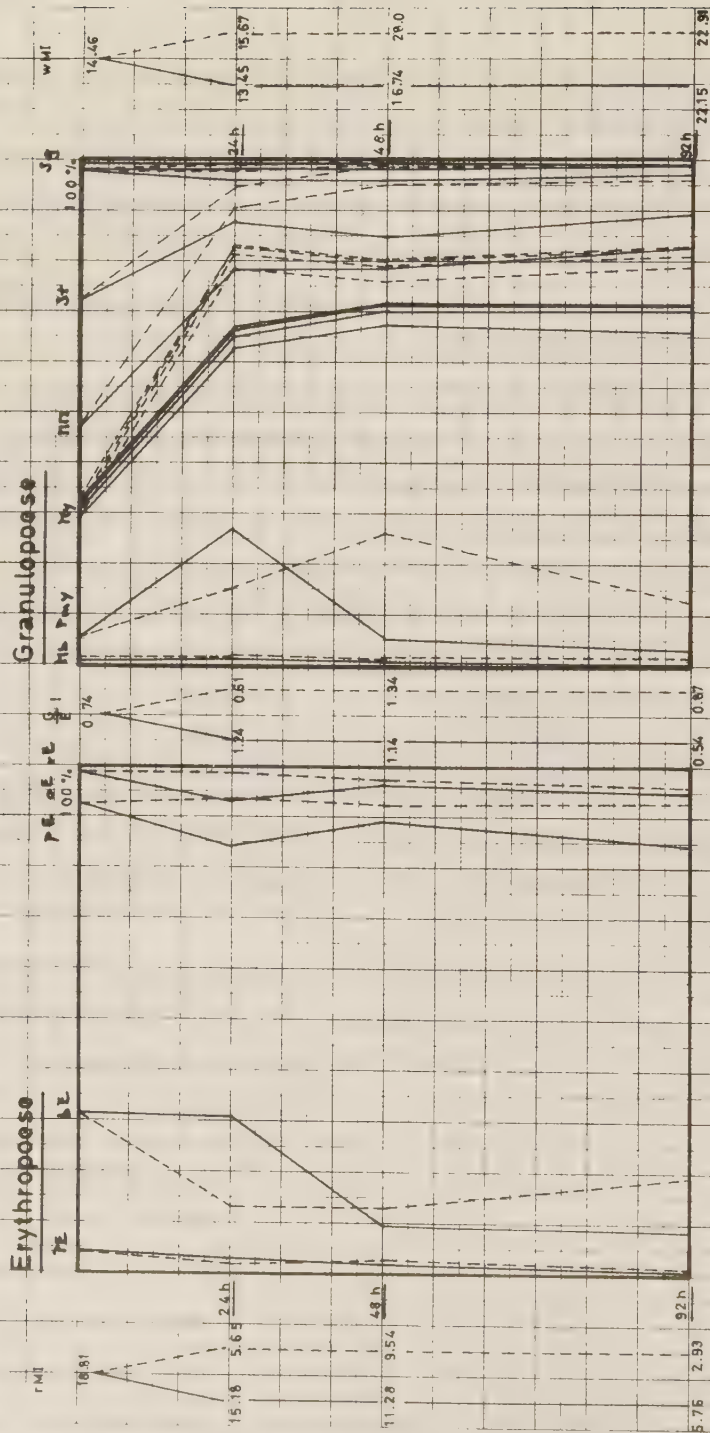
Die Mitoseindices der Fluocortolonausstriche liegen durchweg über denen der Kontrollpräparate.

Die G/E-Indices zeigen, daß der Anteil der Erythroblasten in der Kontrolle bis 48 Stunden leicht ansteigt und dann geringer wird. In der Zusatzkultur fällt der Anteil der weißen Zellen nach 24 Stunden ebenfalls zurück, aber stärker als in der Kontrollkultur. Nach 48 Stunden nehmen die Erythroblasten ab, nach 96 Stunden wieder zu, so daß in den letzten Ausstrichen in der Fluocortolonkultur relativ mehr rote als weiße Zellen vorliegen.

Insgesamt läßt sich in Versuch 1 bei einer nur mäßigen Ausreifung beider Kulturen eine Tendenz zur Reifungshemmung in der Fluocortolonkultur erkennen. In beiden Zellreihen liegen in den 96-Stunden-Ausstrichen der Zusatzkultur weniger Reife vor als im Kontrollansatz.

Wie die Mitoseindices zeigen, ist die Regeneration der Erythroblasten unter Fluocortolonzusatz gehemmt. In der weißen Reihe ist in diesem Versuch kein deutlicher Unterschied zwischen Zusatz- und Kontrollkultur sichtbar.

Abb.: 2



Kontrolle

Zusatz

Versuch 2 mit dem Knochenmark des Patienten Sch., E.

Klinische Diagnose: Verdacht auf Monoblastenleukämie, Anämie
Therapie vor der Sternalpunktion: Wiederholte Bluttransfusionen, Vitamine, 0,4 mg Lanitop^R/die.

Die Reifungskurve der Erythropoese (Abb.3) zeigt, daß nach 24 Stunden Bebrütungszeit beide Kulturen gereift sind, die Fluocortolonkultur allerdings weniger als die Kontrolle. Bis 48 Stunden setzt sich die Reifung in der Zusatzkultur fort. In der Kontrollkultur nehmen die basophilen und polychromatischen Erythroblasten zu, so daß die Kurve auf Kosten der Reifen nach rechts gerückt erscheint. Danach reift die Kontrollkultur weiter, die Entwicklung in der Fluocortolonkultur stagniert.

Die Mitoseindices sind in den Zusatzpräparaten durchweg rückläufig, wobei die Werte unter denen der Kontrollausstriche liegen. Dort kommt es lediglich nach 96 Stunden zu einem Wiederansteigen der Mitosen.

In der Granulopoese erkennt man nach 24 Stunden (Abb.3) eine Vermehrung der Teilungsfähigen, die in der Kontrolle ausgeprägter ist als im Fluocortolonansatz. In der Zusatzkultur werden weniger reife Zellen beobachtet als im Kontrollpräparat. Nach 48 Stunden hat sich die Vermehrung der Promyelozyten in der Kontrollkultur fortgesetzt. Im Zusatzpräparat hat der Anteil der reifen Zellformen eine Zunahme erfahren. Im letzten Ausstrich zeigt sich, daß die Kontrollkultur weitergehend ausgereift ist als die Fluocortolonkultur.

Die Mitoseindices fallen in beiden Ansätzen mit fortschreitender Bebrütungszeit. Die Werte der Zusatzkultur liegen über denen der Kontrolle.

Die G/E-Indices zeigen, daß in der Zusatzkultur der relative Anteil der weißen Zellen ständig abnimmt. Die gleiche Tendenz wird in der Kontrollkultur beobachtet, dort allerdings in geringerer Ausprägung.

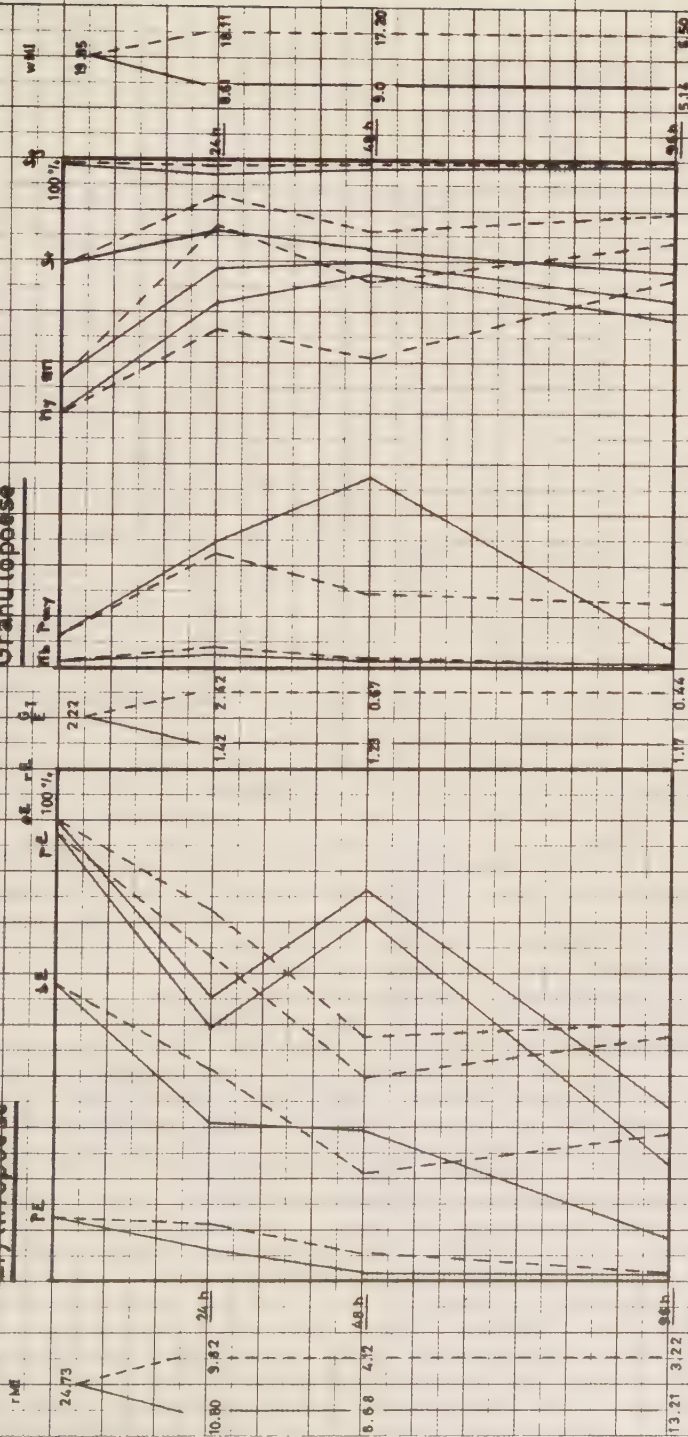
Für diesen Versuch wurden zusätzliche Präparate ausgewertet, um die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase zu beurteilen (Tab.1,2). Die Gesamtindices der Granulopoese in der Kontrollkultur gehen nach 48 Stunden zurück und steigen nach 96 Stunden wieder an, allerdings nur sehr geringfügig. Dagegen liegt die Aktivität des Enzyms in den Fluocortolonausstrichen nach 24 und 48 Stunden deutlich höher als in den Kontrollpräparaten. Der Gipfel liegt bei 48 Stunden. Die Aktivität der aLP in den retikulären Zellen ist in Versuch 2 nahezu Null.

Insgesamt zeigt Versuch 2, daß die Kultur mit dem Fluocortolonzusatz gegenüber der Kontrolle in beiden Zellreihen in ihrer Reifung relativ gehemmt wurde.

Die Regeneration der Erythroblasten (Tab.6) wird unter Fluocortoloneinfluß stark zurückgedrängt, während die Regeneration der weißen Reihe in der Fluocortolonkultur eine Steigerung zeigt (Tab.7).

Erythropoese

Granulopoese



Kontrolle

Zusatz

Tab.1

ALP-Indices der Kontrolle (Fall 2)

Zellart/Zeit	24 h	48 h	72 h
Myeloblasten	$\frac{2}{15}$	$\frac{0}{12}$	$\frac{0}{4}$
Promyelozyten	$\frac{57}{302}$	$\frac{6}{77}$	$\frac{0}{71}$
Myelozyten	$\frac{195}{562}$	$\frac{135}{305}$	$\frac{554}{695}$
Metamyelozyten	$\frac{73}{77}$	$\frac{37}{130}$	$\frac{80}{122}$
Stabkernige	$\frac{28}{108}$	$\frac{6}{89}$	$\frac{0}{54}$
Segmentkernige	$\frac{0}{32}$	$\frac{14}{68}$	$\frac{4}{29}$
Gesamtindex	$\frac{355}{1096}$	$\frac{198}{901}$	$\frac{638}{975}$

Kl. Retikulumzellen	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{27}$	$\frac{0}{10}$
Gr. Retikulumzellen	$\frac{0}{8}$	$\frac{1}{22}$	$\frac{0}{5}$
Ph. Retikulumzellen	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Gesamtindex	$\frac{0}{12}$	$\frac{1}{49}$	$\frac{0}{15}$

Tab. 2

ALP-Indices mit Zusatz (Fall 2)

Zellart/Zeit	24 h	48 h	72 h
Myeloblasten	$\frac{0}{2}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Promyelozyten	$\frac{32}{102}$	$\frac{49}{40}$	$\frac{6}{114}$
Myelozyten	$\frac{364}{681}$	$\frac{790}{650}$	$\frac{219}{480}$
Metamyelozyten	$\frac{131}{161}$	$\frac{337}{246}$	$\frac{174}{199}$
Stabkernige	$\frac{34}{41}$	$\frac{102}{84}$	$\frac{100}{117}$
Segmentkernige	$\frac{12}{17}$	$\frac{57}{63}$	$\frac{79}{94}$
Gesamtindex	$\frac{573}{1024}$	$\frac{1335}{1083}$	$\frac{578}{1004}$

Kl. Retikulumzellen	$\frac{0}{23}$	$\frac{0}{13}$	$\frac{0}{71}$
Gr. Retikulumzellen	$\frac{0}{8}$	$\frac{0}{6}$	$\frac{0}{36}$
Ph. Retikulumzellen	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Gesamtindex	$\frac{0}{31}$	$\frac{0}{19}$	$\frac{0}{107}$

Versuch 3 mit dem Knochenmark des Patienten B., G.

Klinische Diagnose: Verdacht auf Erythroleukämie
Therapie vor der Sternalpunktion: 2 Tabl. Nuran^R/die,
0,4 mg Lanitop^R/die.

Die Reifungskurve (Abb.4) der roten Reihe läßt gut erkennen, daß die Reifung in den Fluocortolonpräparaten bis 48 Stunden gehemmt ist. Danach reifen die Erythroblasten der Zusatzkultur zwar stärker aus als die des Kontrollansatzes, nach 72 Stunden Bebrütungszeit liegen aber im Kontrollausstrich mehr reife Zellen vor als im Fluocortolonpräparat.

Die Mitoseindices fallen in beiden Kulturen stetig ab, wobei die Werte in der Zusatzkultur niedriger sind als in der Kontrolle. Nach 72 Stunden werden keine Mitosen mehr beobachtet.

Auch in der Granulopoese ist die Kurve der Zusatzpräparate bis 24 Stunden nach rechts verschoben. Die unreifen Formen nehmen in beiden Kulturen zu, in der Fluocortolonkultur stärker als im Kontrollansatz. Danach setzt eine Reifung ein, im Kontrollpräparat zögernder als in der Fluocortolonkultur. Die Werte beider Kulturen gleichen sich nahezu an. Während die Kontrollkultur weiter ausreift, ist in der Fluocortolonkultur nach 72 Stunden eine deutliche Hemmung eingetreten.

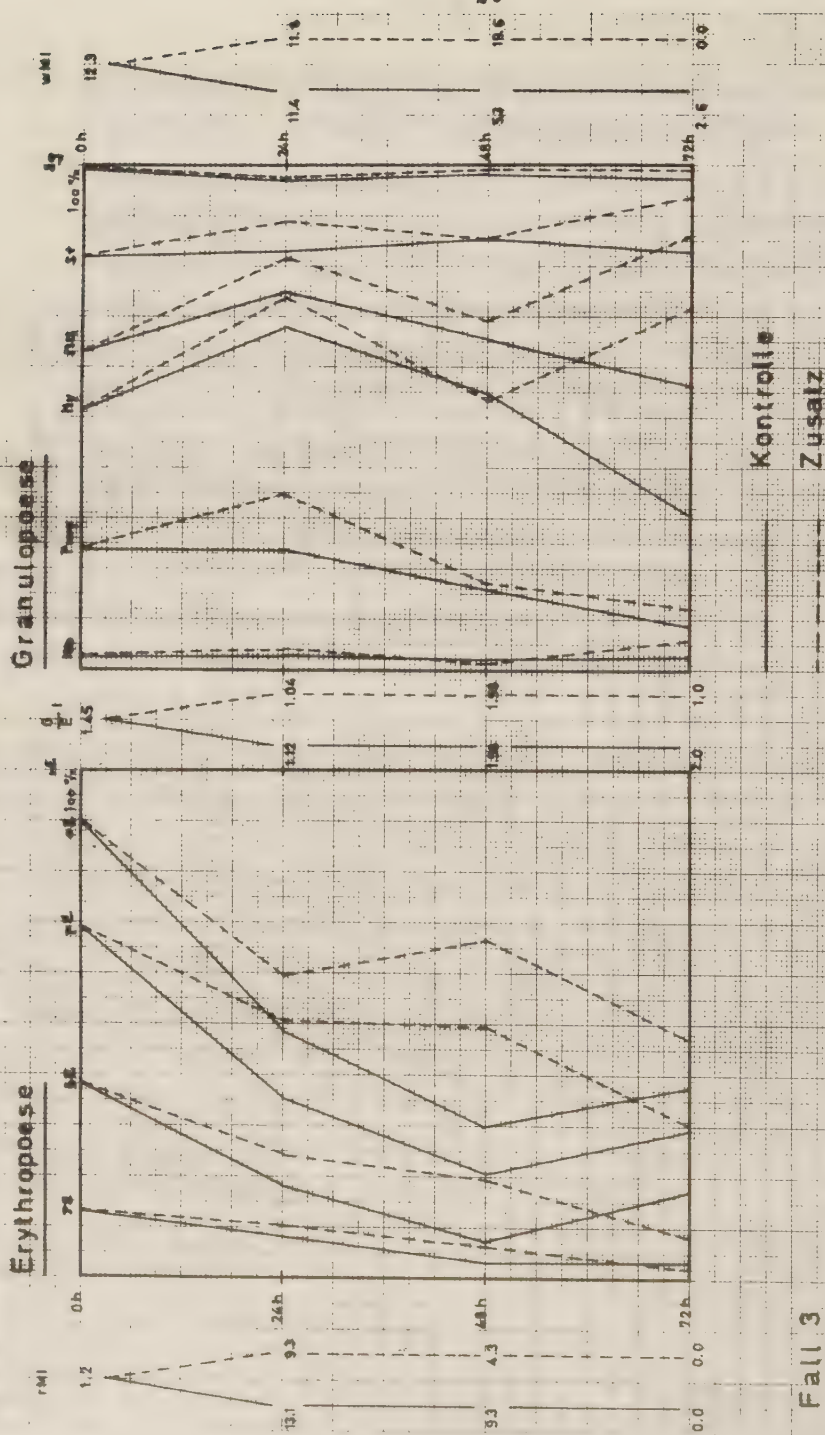
Die Mitoseindices fallen in der Kontrolle laufend ab, in

der Zusatzkultur steigen sie nach 48 Stunden stark an um dann auf Null zurückzufallen.

Die G/E-Indices zeigen in der Kontrollkultur eine leichte Zunahme des roten Zellanteils nach 24 Stunden, danach geht er zurück. In der Zusatzkultur fällt auf, daß der Anteil der weißen Zellen mit fortschreitendem Alter der Kultur mehr abnimmt als in den Kontrollpräparaten.

Beide Reihen zeigen in Versuch 3 bei Zusatz von Fluocortolon eine Reifungshemmung gegenüber den Kontrollen. Die Regeneration ist in der Erythropoese ebenfalls reduziert, in der Granulopoese verhält sie sich uneinheitlich.

Abb. 4



Versuch 4 mit dem Knochenmark des Patienten F., H.

Klinische Diagnose: Chronische Hepatitis, Verdacht auf splenogene Markhemmung.

Therapie vor der Sternalpunktion: 0,5 mg Lanicor^R/die, Vitamine, Prednisolon p.o.:

- 6 Tage 50 mg/die
- 6 Tage 25 mg/die
- 2 Tage 20 mg/die
- 2 Tage 15 mg/die
- 3 Tage 10 mg/die
- 10 Tage 50 mg/die
- 7 Tage 25 mg/die
- 4 Tage 50 mg/die bis einschließlich Punctionstag.

Insgesamt hat der Patient 1,425 g Prednisolon erhalten.

Die Erythropoese (Abb.5) zeigt für beide Kulturen eine gut ausgeprägte Reifung. Deutlich wird sichtbar, daß in diesem Fall die Kurven der Kontrollkultur rechts von denen der Fluocortolonkultur liegen: In der Zusatzkultur ist die Reifung beschleunigt abgelaufen. Nach 72 Stunden holt die Reifung des Kontrollansatzes die der Fluocortolonkultur ein und die Werte gleichen sich einander an.

Die Mitoseindices der Kontrollkultur zeigen eine fallende Tendenz, ebenso die der Fluocortolonkultur. Nach 72 Stunden werden keine Mitosen mehr beobachtet.

Die Reifungskurve der Granulopoese zeigt nach 24 Stunden

einen ähnlichen Verlauf für Kontroll- und Zusatzkultur: Der Anteil der Teilungsfähigen ist größer geworden. Danach setzt in der Zusatzkultur die Reifung ein. In der Kontrollkultur macht sich dagegen eine Hemmung bemerkbar. Nach 72 Stunden liegen im Fluocortolonpräparat deutlich mehr reife Zellen vor als im Kontrollausstrich.

Die Mitoseindices fallen in der Kontrollkultur nach 24 Stunden ab, steigen nach 48 Stunden und fallen dann wieder. In der Zusatzkultur kommt es nach 24 Stunden zu einem erheblichen Anstieg; trotz langsamen Abfalles in den nachfolgenden Ausstrichen bleiben die Werte höher als in den Kontrollkulturen.

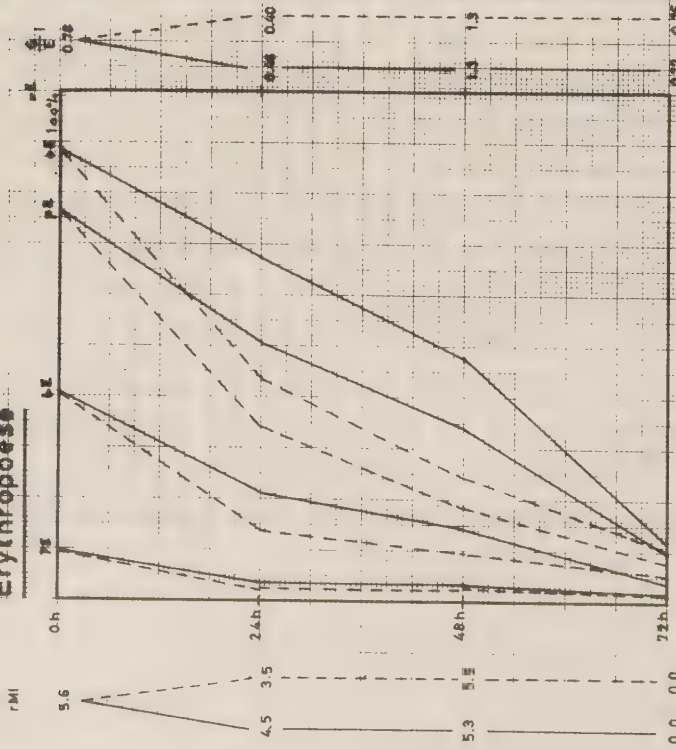
Die G/E-Indices lassen erkennen, daß in der Zusatzkultur der Anteil der weißen Zellen zwar mit dem Alter der Kultur abnimmt, der Wert aber über dem der Kontrollpräparate liegt.

Auch in diesem Versuch wurde die Aktivität der aLP beurteilt (Tab.3,4). In der Granulopoese steigt die Aktivität mit zunehmendem Alter der Kontrollkulturen leicht an. In den Fluocortolonpräparaten liegen die Werte für 24 und 48 Stunden deutlich über denen der Kontrollausstriche. Die Aktivität der aLP in den Retikulumzellen bleibt in der Kontrollkultur gering. Die Fluocortolonpräparate lassen einen höheren Index erkennen. Der Gipfel der Aktivität liegt bei 48 Stunden.

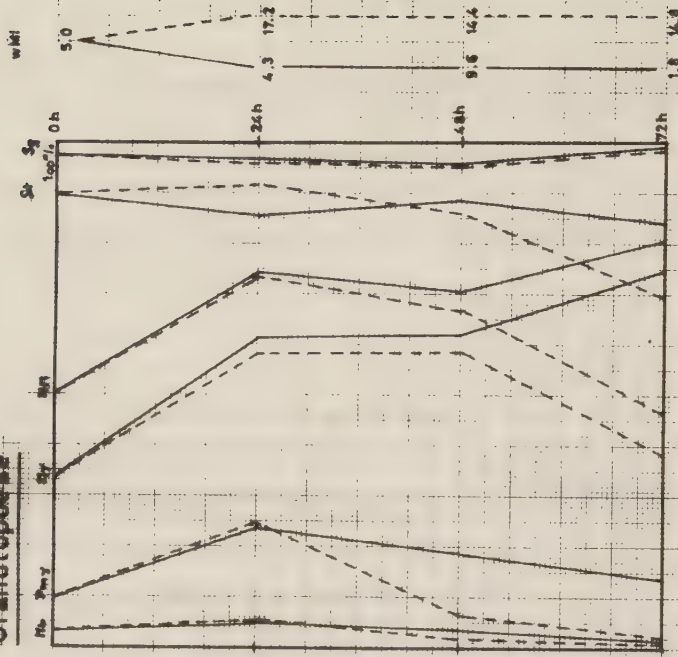
In Versuch 4 ist die Reifung beider Reihen in der Zusatzkultur beschleunigt. Die Regeneration der Erythropoese läßt unter Fluocortoloneinfluß keine wesentliche Abweichung von der Kontrolle erkennen. Dagegen ist die Regeneration der

Granulopoesis in der Zusatzkultur deutlich gesteigert.

Erythropoese



Granulopoese



Tab.3

ALP-Indices der Kontrolle (Fall 4)

Zellart/Zeit	24 h	48 h	72 h
Myeloblasten	$\frac{1}{9}$	$\frac{0}{11}$	$\frac{0}{3}$
Promyelozyten	$\frac{35}{164}$	$\frac{9}{74}$	$\frac{0}{43}$
Myelozyten	$\frac{107}{416}$	$\frac{104}{209}$	$\frac{293}{388}$
Metamyelozyten	$\frac{77}{122}$	$\frac{78}{127}$	$\frac{60}{125}$
Stabkernige	$\frac{83}{91}$	$\frac{101}{105}$	$\frac{53}{61}$
Segmentkernige	$\frac{52}{123}$	$\frac{106}{174}$	$\frac{82}{62}$
Gesamtindex	$\frac{196}{925}$	$\frac{199}{790}$	$\frac{357}{682}$

Kl. Retikulumzellen	$\frac{31}{123}$	$\frac{64}{47}$	$\frac{6}{214}$
Gr. Retikulumzellen	$\frac{57}{18}$	$\frac{93}{39}$	$\frac{3}{67}$
Ph. Retikulumzellen	$\frac{0}{2}$	$\frac{106}{45}$	$\frac{10}{17}$
Gesamtindex	$\frac{3}{143}$	$\frac{81}{131}$	$\frac{6}{298}$

ALP-Indices mit Zusatz (Fall 4)

Tab.4

Zellart/Zeit	24 h	48 h	72 h
Myeloblast	$\frac{0}{2}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{0}$
Promyelozyt	$\frac{16}{53}$	$\frac{24}{21}$	$\frac{3}{61}$
Myelozyt	$\frac{196}{411}$	$\frac{403}{412}$	$\frac{112}{307}$
Metamyelozyt	$\frac{91}{122}$	$\frac{258}{184}$	$\frac{119}{174}$
Stabkernige	$\frac{51}{33}$	$\frac{229}{75}$	$\frac{115}{102}$
Segmentkernige	$\frac{36}{33}$	$\frac{157}{89}$	$\frac{90}{94}$
Gesamtindex	$\frac{307}{654}$	$\frac{747}{782}$	$\frac{322}{738}$

Kl. Retikulumzellen	$\frac{23}{362}$	$\frac{16}{296}$	$\frac{13}{318}$
Gr. Retikulumzellen	$\frac{46}{41}$	$\frac{43}{26}$	$\frac{8}{35}$
Ph. Retikulumzellen	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Gesamtindex	$\frac{16}{403}$	$\frac{17}{322}$	$\frac{13}{353}$

Versuch 5 mit dem Knochenmark des Patienten W., E.

Klinische Diagnose: Verdacht auf Morbus Hodgkin.

Die Reifungskurve der Erythropoese (Abb.6) zeigt für die Kontrollkultur bis 48 Stunden eine zügige Reifung. Im Fluocortolonansatz reifen die Zellen ebenfalls, aber langsamer. Die Reifung setzt sich in der Zusatzkultur bis 72 Stunden Kulturzeit fort, dagegen macht sich im Kontrollpräparat eine Hemmung bemerkbar. Dadurch gleichen sich die Werte beider Kulturen an.

Die Mitoseindices gehen in der Kontrollkultur mit fortschreitender Bebrütungszeit zurück. Im Fluocortolonansatz fallen sie zunächst ebenfalls ab, steigen nach 48 Stunden wieder an um danach auf Null abzufallen.

In der Granulopoese reifen die Zellen der Zusatzkultur bis 24 Stunden, während im Kontrollansatz eine Hemmung zu sehen ist. Nach 48 Stunden haben die teilungsfähigen Zellen in der Fluocortolonkultur weiter zugenommen. In der Kontrollkultur hat sich nichts geändert. Diese Stagnation ist auch noch nach 72 Stunden zu beobachten. In der Fluocortolonkultur hat sich die Regeneration der Teilungsfähigen fortgesetzt. Nach 72 Stunden liegen in der Kontrollkultur noch mehr reife Zellen vor als im Fluocortolonpräparat.

Die Mitoseindices steigen in beiden Ansätzen nach 24 Stunden an, in der Zusatzkultur stärker als in der Kontrolle. Danach sinken die Werte in beiden Kulturen und erreichen nach 72

Stunden einen nahezu gleichen Stand.

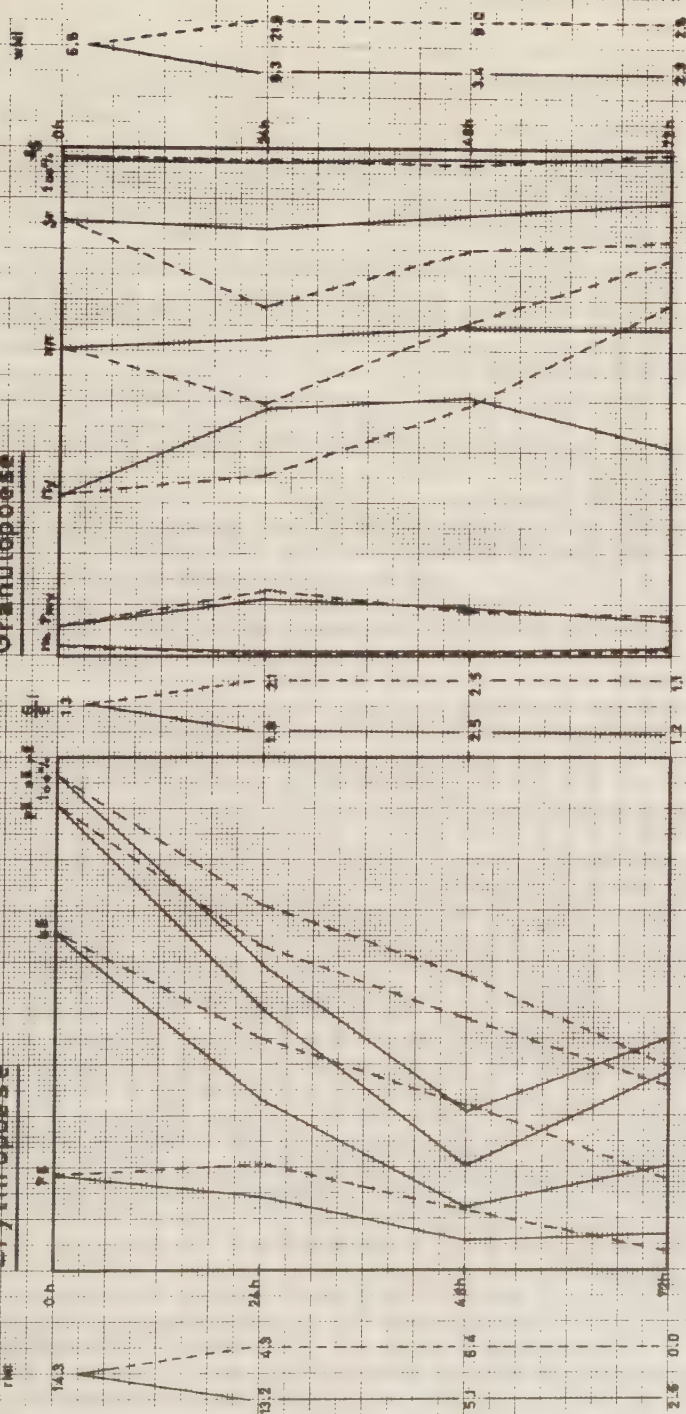
Die G/E-Indices zeigen, daß in der Kontrollkultur der Anteil der Erythroblasten zunächst ab-, dann wieder zunimmt. Die weißen Zellen nehmen bis 48 Stunden relativ zu, danach sinkt ihr Anteil. In der Zusatzkultur ist die Abnahme des weißen Zellanteils deutlicher ausgeprägt als im Kontrollansatz.

In Versuch 5 zeigen beide Reihen in der Fluocortolonkultur eine Reifungshemmung gegenüber dem Kontrollansatz. Die Regeneration verhält sich uneinheitlich in der Erythropoese, die der Granulopoese ist unter dem Einfluß von Fluocortolon gesteigert.

Abb. 6

Erythropoese

Granulopoese



Kontrolle

Zusatz

Fall 5

Mittelwerte (Abb.7)

Erythropoese

Proerythroblasten: Die prozentualen Mittelwerte der Proerythroblasten sinken in beiden Kulturen mit fortdauernder Brutungszeit. In den Zusatzkulturen liegen die Mittelwerte nach 24 und 48 Stunden über denen der Kontrollausstriche.

Basophile Erythroblasten: Auch hier ist bis 48 Stunden ein Rückgang zu beobachten. Während der Mittelwert für die Kontrollkulturen weiter sinkt, steigt der Anteil in den Fluocortolonansätzen zuletzt an.

Polychromatische Erythroblasten: Die mittleren Anteile der Polychromatischen sinken in den Kontrollkulturen zunächst stark ab, steigen wieder und fallen erneut. In den Fluocortolonkulturen ergibt sich ein stetiger Rückgang.

Oxyphile Erythroblasten: Der Mittelwert der Kontrollkulturen steigt nach 24 Stunden an und fällt dann ab. Der Abfall nach 24 Stunden ist auch in den Fluocortolonkulturen sichtbar. Danach steigt der Mittelwert leicht an und geht wieder zurück.

Reife Erythroblasten: In beiden Kulturen steigen die mittleren Anteile der Reifen mit dem Alter der Kulturen. Nach 24 Stunden liegt der Prozentsatz in den Kontrollpräparaten über dem der Fluocortolonausstriche. Danach gleichen sich die Werte an.

Granulopoese

Myeloblasten: Die Mittelwerte der Kontrollkulturen steigen

zunächst an, danach erfolgt ein anhaltender Abfall. In den Fluocortolonpräparaten zeigt sich nach 24 Stunden eine Zunahme über den mittleren Wert der Kontrollausstriche, dann eine Abnahme und schließlich wieder ein leichter Anstieg.

Promyelozyten: In beiden Ansätzen steigen die Mittelwerte anfangs stark an um darauf wieder abzufallen. Bis auf den Wert für die zeitlich am Ende der Versuche entnommenen Stichproben liegen die mittleren Anteile der Promyelozyten in den Fluocortolonausstrichen etwas unter denen der Kontrollkulturen.

Myelozyten: Bis 48 Stunden Bebrütungszeit verlaufen die mittleren Reifungskurven beider Ansätze nahezu parallel. Danach tritt in den Fluocortolonpräparaten eine stärkere Zunahme ein als in den Kontrollpräparaten.

Metamyelozyten: Die mittleren Anteile fallen in den Kontrollkulturen bis nach 48 Stunden stetig ab. Danach erfolgt eine Zunahme. Der Mittelwert der Fluocortolonpräparate geht nach 24 Stunden ebenfalls zurück, er steigt nach 48 Stunden und fällt dann wieder. In den 24- und 48-Stunden-Präparaten der Fluocortolonkulturen liegen die Mittelwerte wenig über denen der Kontrollpräparate, in den letzten Ausstrichen liegen sie deutlich höher.

Stabkernige: Bei den Stabkernigen der Kontrollkulturen fällt der Mittelwert nach 24 Stunden um dann wieder leicht anzusteigen. Der mittlere Anteil in den Fluocortolonkulturen fällt nach 24 Stunden unter den Wert der Kontrollausstriche, nimmt

nach 48 Stunden leicht zu, wobei der Stand der Kontrollpräparate nicht erreicht wird, und fällt danach erheblich ab.

Segmentkernige: Wie bei den Stabkernigen tritt nach 24 Stunden bei den Mittelwerten der beiden Ansätze ein Rückgang auf. Während in den Kontrollausstrichen danach die mittleren Werte kontinuierlich ansteigen, sinken die der Zusatzkulturen weiter ab um erst nach 72 Stunden wieder zuzunehmen. Bis auf den Mittelwert der 24-Stunden-Präparate liegen die Anteile der Kontrollkulturen im Mittel über denen der Fluocortolon-ausstriche.

G/E-Indices (Tab.5): In beiden Ansätzen bewegen sich die G/E-Indices zunächst nach unten, dann aufwärts und schließlich erfolgt wieder ein Abfall. Die Werte der Kontrollkulturen liegen im Mittel durchweg über denen der Zusatzpräparate.

Rote Mitoseindices (Tab.6): Die Mitosehäufigkeit der roten Reihen aller Fälle gehen in den Kontrollpräparaten zunächst leicht nach oben, dann fallen sie ab. In den Zusatzkulturen ist ein stetiger Rückgang zu erkennen. Die Werte der Zusatz-ausstriche liegen stets eindeutig unter denen der Kontrollkulturen.

Weißer Mitoseindices (Tab.7): Während die Teilungshäufigkeit in der weißen Reihe mit fortschreitendem Alter der Kulturen in den Kontrollansätzen rückläufig ist, steigt sie in den Fluocortolonkulturen bis 48 Stunden stark an. Danach fällt der Index. In allen Präparaten mit Fluocortolonzusatz liegen

die weißen Mitoseindices über den Werten der Kontrollkulturen.

Phagozytierende Retikulumzellen (Tab.8, Abb.8): Wie die Graphik zeigt, nimmt der relative Anteil mit dem Alter der Kulturen ab, wobei in den Fluocortolonkulturen der Abfall rascher erfolgt.

Kleine Retikulumzellen (Tab.9, Abb.9): Nachdem in beiden Ansätzen die Ausgangswerte nach 24 Stunden absinken, tritt eine Steigerung ein. Der anfängliche Rückgang erfolgt in den Fluocortolonpräparaten weniger steil, während der darauf folgende Anstieg deutlicher hervortritt als in den Kontrollkulturen.

Große Retikulumzellen (Tab.10, Abb.10): Die Entwicklung verläuft ähnlich wie bei den kleinen Retikulumzellen. Nach 72 bzw. 96 Stunden sinkt der Wert der Zusatzkulturen unter den der Kontrollpräparate.

Gesamte Retikulumzellen (Tab.11, Abb.11): Die Zusammenfassung der Anteile aller Retikulumzellen ergibt das gleiche Verhalten wie es für die kleinen Retikulumzellen beschrieben wurde.

Plasmazellen (Tab.12, Abb.12): Die Mittelwerte der Plasmazellen zeigen ein uneinheitliches Verhalten. Während die Werte der Kontrollkulturen nach 24 Stunden steil, nach 48 Stunden weniger steil abfallen und danach wieder steigen, gehen die Anteile in den Zusatzkulturen bis 24 Stunden stark zurück, steigen danach an und fallen erneut ab.

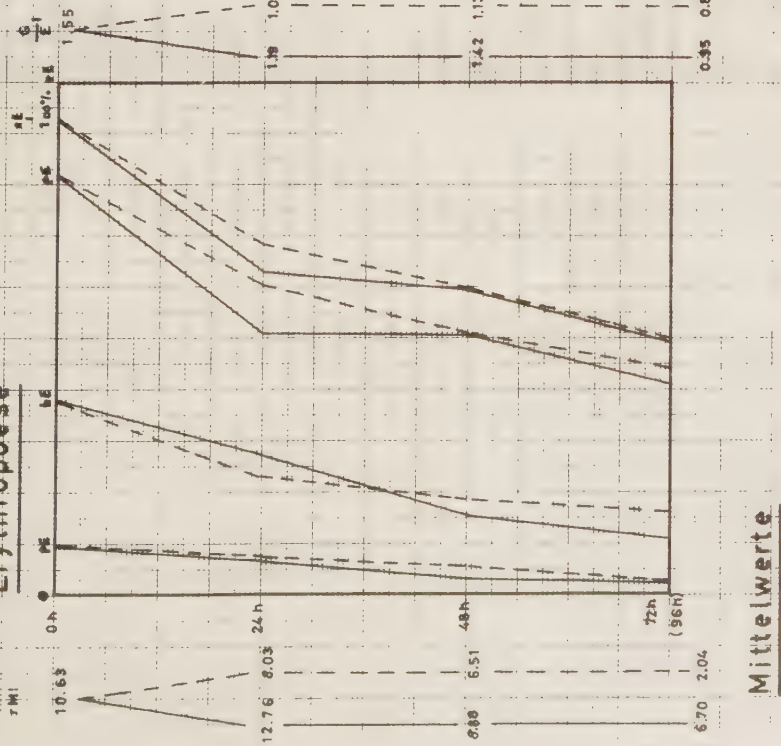
Lymphozyten (Tab.13, Abb.13): Die Mittelwerte für die Kontrollkulturen zeigen nach 24 Stunden einen mäßigen Anstieg, danach einen Abfall und schließlich Stagnation. Dagegen sinken die mittleren Anteile der Lymphozyten in den Zusatzkulturen stetig bis 48 Stunden Bebrütungsdauer, danach erfolgt ein leichter Anstieg.

Karyologische Kurve der Erythropoese (Abb.14): Die prozentualen Anteile der Prophasen, der frühen Metaphasen, der Ana- und der Telophasen zeigen in der Kurve kaum eine Abweichung von den Werten der Fluocortolonkulturen. Deutlich tritt jedoch der Unterschied bei den späten Metaphasen hervor. In den Fluocortolonpräparaten ist der Anteil geringer als im Kontrollansatz. Bei den Rekonstruktionsphasen liegt der Wert der Zusatzpräparate höher.

Karyologische Kurve der Granulopoese (Abb.15): Auch in der weißen Reihe liegt die wesentliche Abweichung der Werte im Bereich der späten Metaphasen. Der Anteil im Fluocortolonansatz ist deutlich höher als in den Kontrollpräparaten.

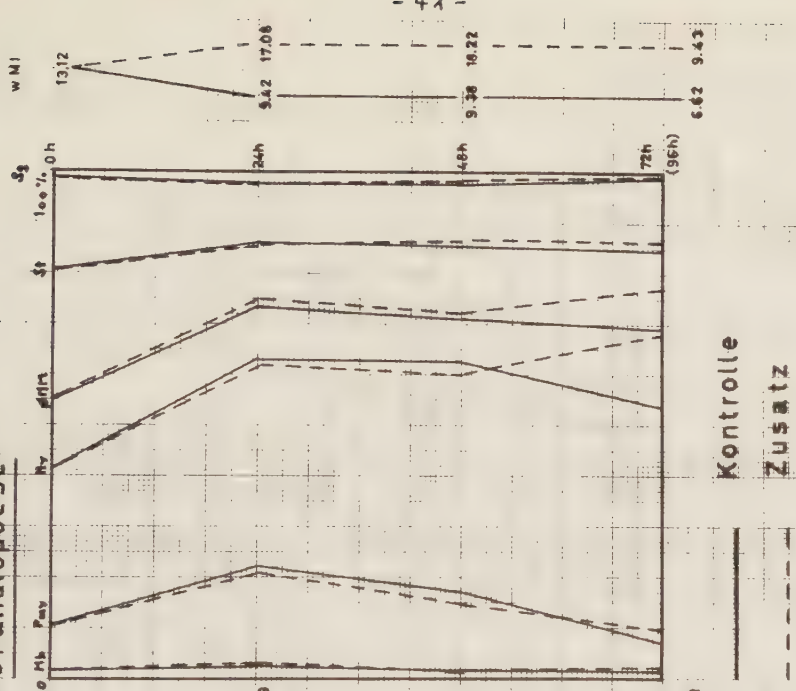
Abb. 7

Erythropoese



Mittelwerte

Granulopoese



Kontrolle
Zusatz

Tabelle der G/E Indices

Tab. 5

	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Mittelwert
0 h	$\frac{1175}{752}$	$\frac{1412}{635}$	$\frac{1156}{792}$	$\frac{794}{1007}$	$\frac{972}{728}$	$\frac{5409}{3470} = 1,55$
Kontrolle	$\frac{1136}{916}$	$\frac{1186}{835}$	$\frac{1052}{937}$	$\frac{618}{1319}$	$\frac{1213}{642}$	$\frac{5203}{4348} = 1,19$
24 h						
Zusatz	$\frac{777}{1262}$	$\frac{1363}{563}$	$\frac{942}{902}$	$\frac{556}{1379}$	$\frac{1403}{637}$	$\frac{5141}{4743} = 1,09$
Kontrolle	$\frac{1069}{916}$	$\frac{1114}{905}$	$\frac{1126}{710}$	$\frac{1035}{791}$	$\frac{1323}{644}$	$\frac{5667}{3966} = 1,42$
48 h						
Zusatz	$\frac{1153}{856}$	$\frac{690}{1019}$	$\frac{1173}{739}$	$\frac{1059}{732}$	$\frac{1353}{541}$	$\frac{4428}{3887} = 1,13$
Kontrolle	$\frac{708}{1290}$	$\frac{1067}{909}$	$\frac{1291}{623}$	$\frac{693}{968}$	$\frac{1060}{830}$	$\frac{4419}{4621} = 0,95$
72 (96) h						
Zusatz	$\frac{927}{1063}$	$\frac{549}{1238}$	$\frac{861}{827}$	$\frac{772}{1009}$	$\frac{890}{787}$	$\frac{3999}{4924} = 0,81$

Tabelle der roten Mitoseindices

Tab. 6

	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Mittelwert (%)
o h	$\frac{14}{744}$	$\frac{14}{566}$	$\frac{1}{713}$	$\frac{5}{890}$	$\frac{10}{697}$	$\frac{44}{3197} = 13,76$
Kontrolle	$\frac{13}{856}$	$\frac{5}{463}$	$\frac{8}{458}$	$\frac{4}{888}$	$\frac{5}{378}$	$\frac{35}{2742} = 12,76$
24 h	$\frac{7}{1239}$	$\frac{4}{407}$	$\frac{5}{536}$	$\frac{2}{599}$	$\frac{2}{454}$	$\frac{26}{3235} = 8,03$
Zusatz						
Kontrolle	$\frac{10}{886}$	$\frac{6}{691}$	$\frac{2}{213}$	$\frac{2}{378}$	$\frac{1}{194}$	$\frac{21}{2362} = 8,88$
48 h	$\frac{8}{838}$	$\frac{2}{485}$	$\frac{2}{491}$	$\frac{1}{179}$	$\frac{2}{309}$	$\frac{15}{2302} = 6,51$
Zusatz						
Kontrolle	$\frac{10}{1215}$	$\frac{4}{302}$	$\frac{0}{234}$	$\frac{0}{113}$	$\frac{1}{373}$	$\frac{15}{2237} = 6,70$
72/96 h	$\frac{3}{1024}$	$\frac{4}{621}$	$\frac{0}{391}$	$\frac{0}{98}$	$\frac{0}{313}$	$\frac{7}{2447} = 2,61$
Zusatz						

Tabelle der weissen Mitoseindizes

Tab. 7

	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Mittelwert (%)
0 h	$\frac{8}{553}$	$\frac{16}{806}$	$\frac{9}{727}$	$\frac{2}{400}$	$\frac{4}{585}$	$\frac{39}{2971} = 13,12$
Kontrolle	$\frac{12}{892}$	$\frac{8}{929}$	$\frac{9}{789}$	$\frac{2}{458}$	$\frac{7}{752}$	$\frac{38}{3818} = 9,42$
24 h						
Zusatz	$\frac{11}{701}$	$\frac{21}{1159}$	$\frac{9}{761}$	$\frac{9}{405}$	$\frac{15}{683}$	$\frac{65}{3809} = 17,08$
Kontrolle	$\frac{14}{836}$	$\frac{8}{888}$	$\frac{6}{735}$	$\frac{7}{730}$	$\frac{3}{859}$	$\frac{38}{4048} = 9,38$
48 h						
Zusatz	$\frac{29}{1036}$	$\frac{9}{523}$	$\frac{16}{814}$	$\frac{10}{691}$	$\frac{8}{886}$	$\frac{72}{3956} = 18,22$
Kontrolle	$\frac{13}{587}$	$\frac{4}{777}$	$\frac{2}{725}$	$\frac{1}{558}$	$\frac{2}{676}$	$\frac{22}{3323} = 6,62$
72 (96) h						
Zusatz	$\frac{19}{829}$	$\frac{3}{461}$	$\frac{0}{738}$	$\frac{5}{353}$	$\frac{2}{694}$	$\frac{29}{3075} = 9,43$

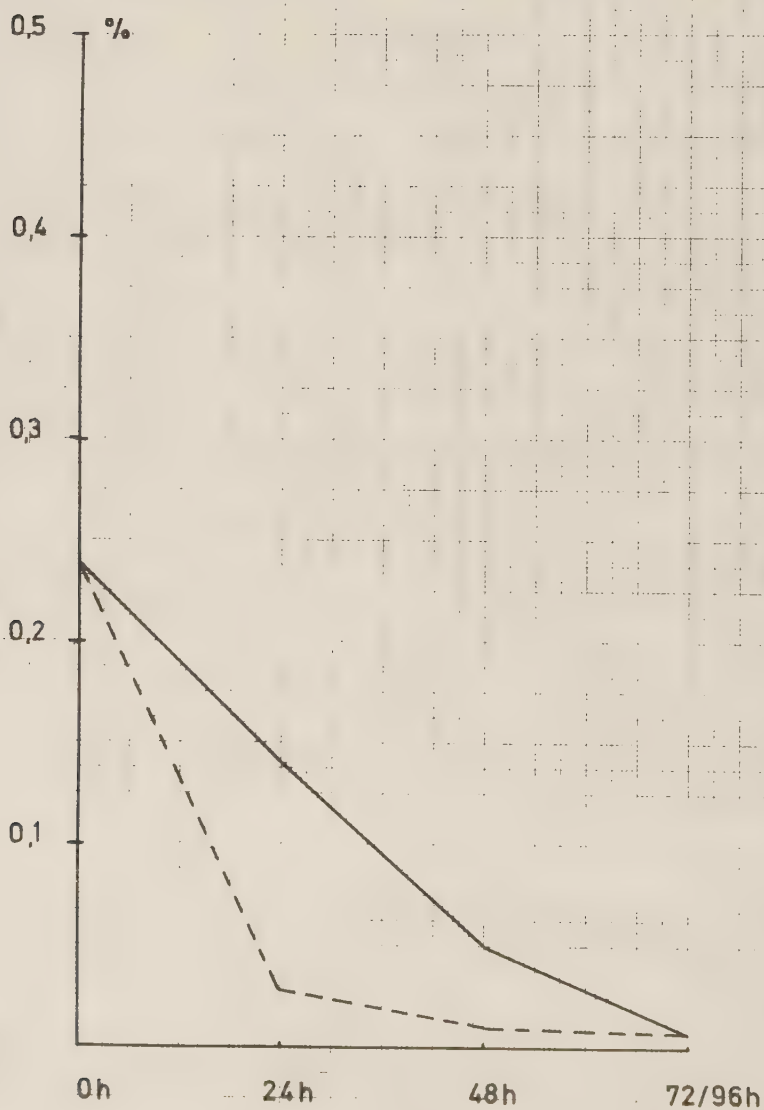
Tab. 8

Anzahl der phagozytierenden Retikulumzellen in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	0,14	0,09	0,04	0,04	0,0	0,0	0,04
2	0,18	0,19	0,15	0,0	0,14	0,05	0,0
3	0,29	0,14	0,09	0,0	0,0	0,0	0,0
4	0,58	0,29	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Summe	1,21	0,71	0,28	0,04	0,14	0,05	0,04
Mittel	0,24	0,14	0,05	0,008	0,02	0,01	0,008

Abb.: 8

Phagozytierende Retikulumzellen in % ($1\% \hat{=} 40 \text{ cm}$)



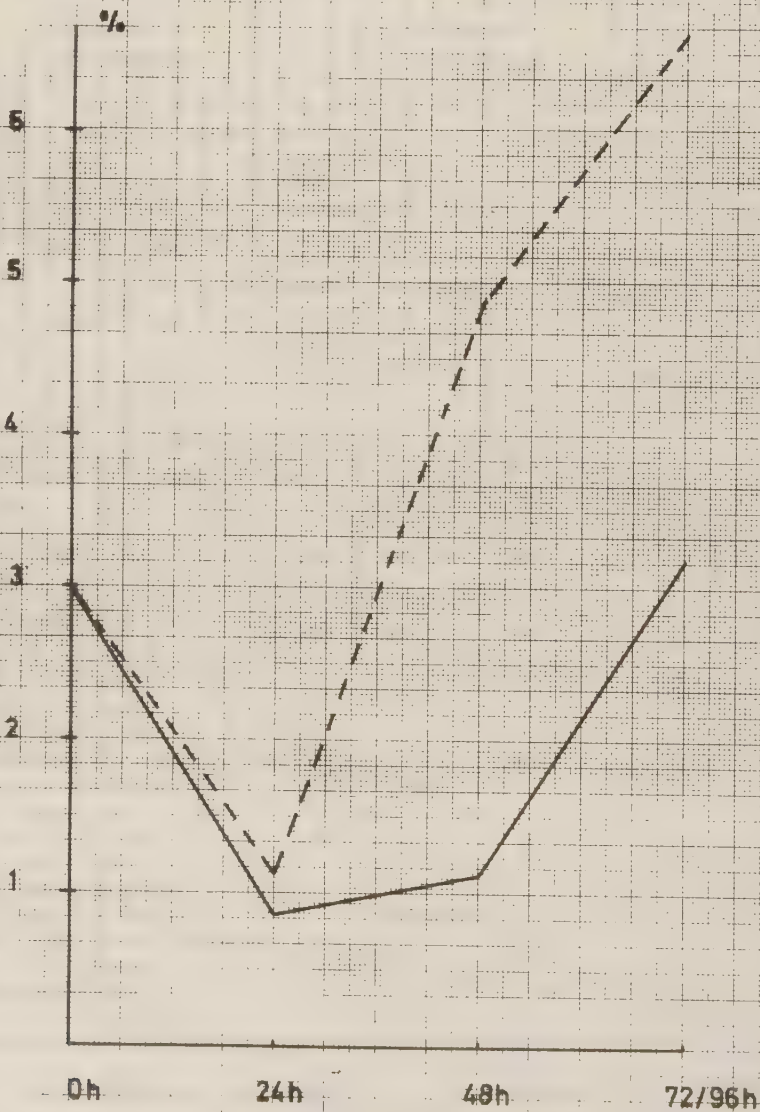
Tab. 9

Anzahl der kleinen Retikulumzellen in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	0,54	0,47	0,39	0,24	0,48	0,34	0,93
2	1,40	0,38	0,34	2,07	0,82	15,60	10,50
3	1,38	1,28	2,18	2,34	2,26	2,44	7,90
4	3,28	1,04	2,05	8,80	1,66	4,60	3,83
5	8,30	1,04	0,68	2,40	0,33	1,20	10,00
Summe	14,90	4,21	5,64	15,85	5,55	24,18	33,16
Mittel	2,98	0,85	1,12	3,17	1,11	4,83	6,63

Abb. 9

Kleine Retikulumzellen in%. (1% $\pm$ 3cm)



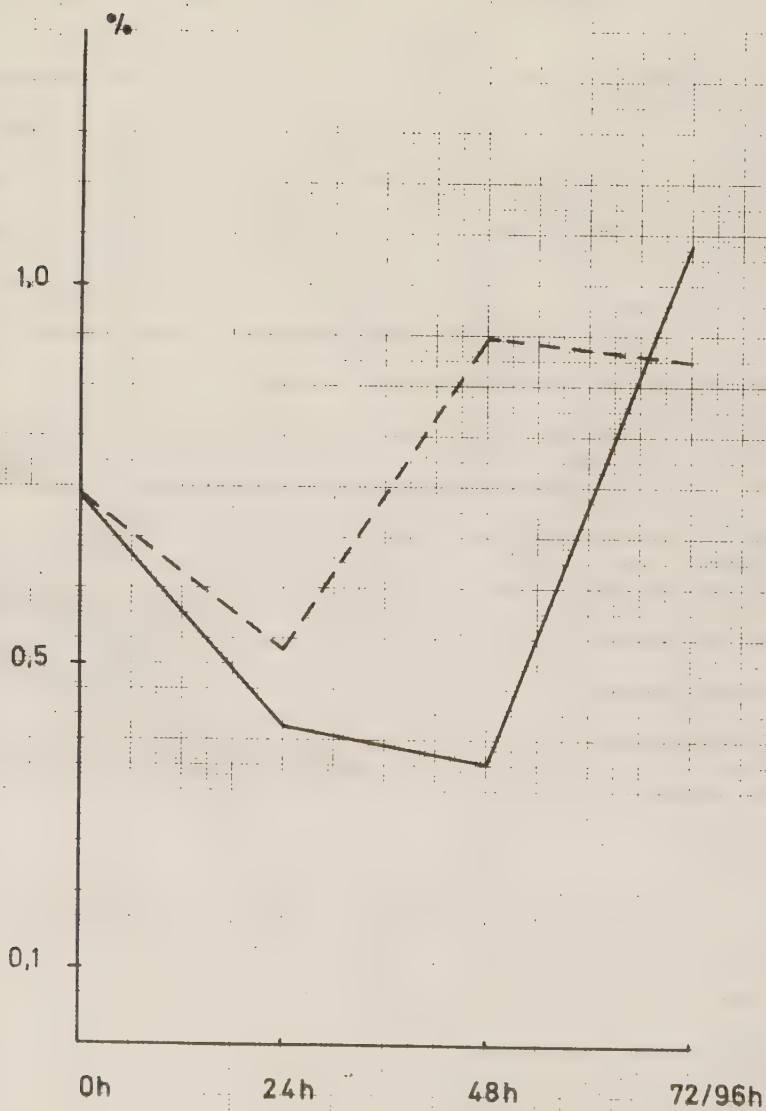
Tab. 10

Anzahl der großen Retikulumzellen in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	0,09	0,09	0,19	0,04	0,29	0,09	0,19
2	0,42	0,43	0,34	0,63	0,48	0,24	0,64
3	0,62	0,78	0,50	0,78	0,64	0,72	1,09
4	0,49	0,48	0,85	2,70	0,59	1,17	1,60
5	1,98	0,34	0,00	1,12	0,61	2,46	1,39
Summe	3,60	2,12	1,88	5,27	2,61	4,68	4,91
Mittel	0,72	0,42	0,37	1,05	0,52	0,93	0,90

Abb. 10

Grosse Retikulumzellen in % (1% $\pm$ 15 cm)



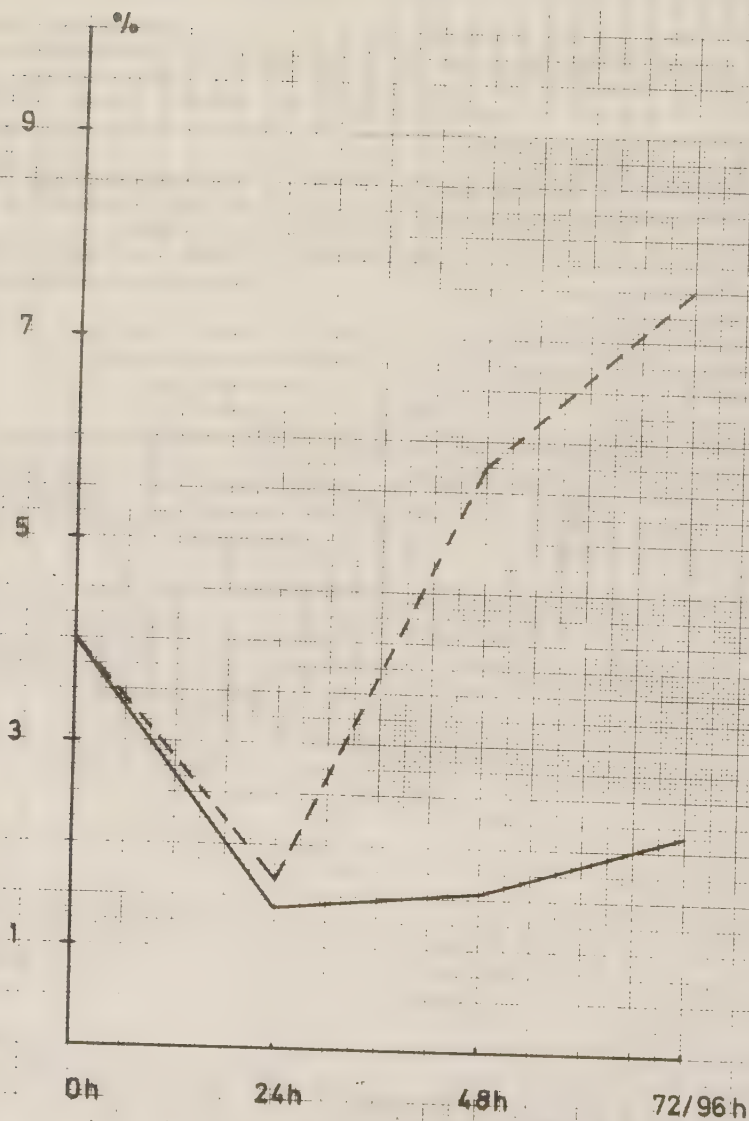
Tab.11

Anzahl der gesamten Retikulumzellen in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	0,78	0,66	0,64	0,34	0,77	0,44	0,17
2	2,00	1,00	0,82	2,75	1,45	15,90	10,60
3	2,30	2,20	2,78	3,10	2,90	3,20	9,00
4	4,30	1,77	2,90	11,40	2,24	5,75	5,43
5	10,80	1,38	0,68	3,15	0,95	3,65	11,40
Summe	20,18	7,01	7,82	10,74	8,31	28,94	37,60
Mittel	4,03	1,40	1,56	2,14	1,66	5,78	7,52

Abb. 11

Gesamte Retikulumzellen in % (1% $\hat{=}$ 2 cm)



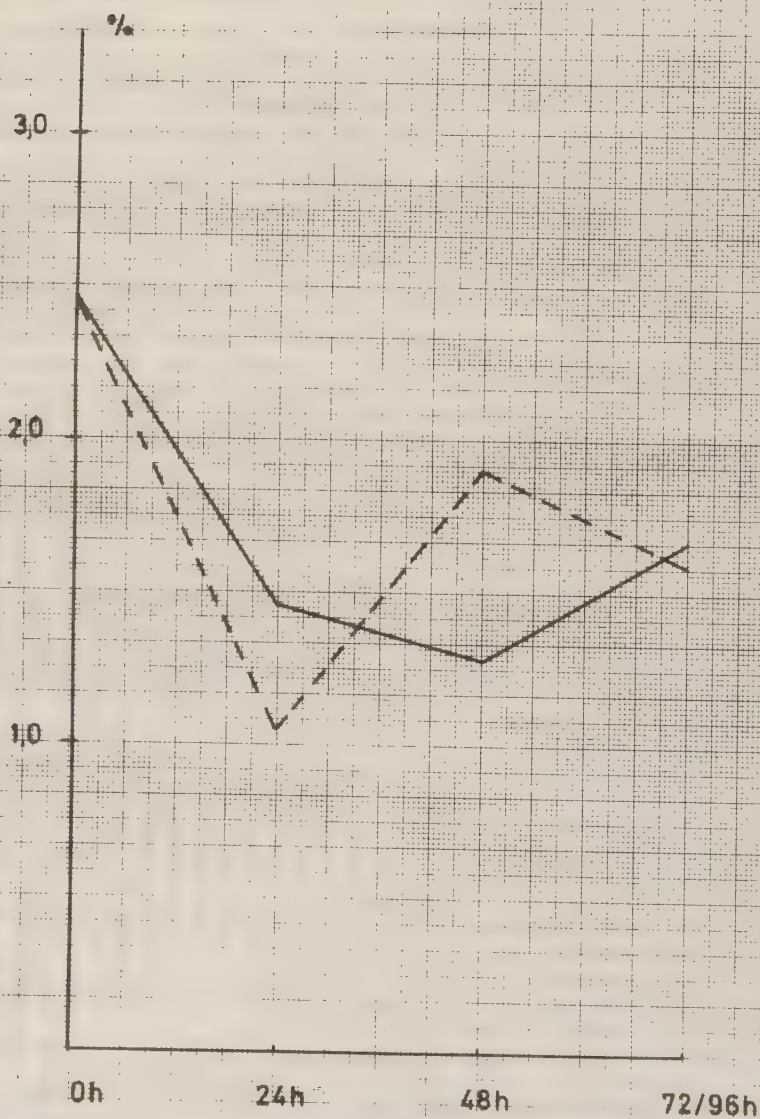
Tab.12

Anzahl der Plasmazellen in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	3,43	1,78	1,42	1,03	0,09	0,39	0,0
2	0,93	0,72	0,43	0,92	0,77	0,29	0,34
3	2,10	2,16	1,74	0,98	2,80	3,54	3,18
4	4,24	2,20	2,25	3,64	1,12	2,88	1,79
5	1,64	0,45	0,59	1,84	0,47	2,40	2,68
Summe	12,34	7,31	6,43	8,41	5,25	9,50	7,99
Mittel	2,46	1,46	1,28	1,68	1,05	1,90	1,59

Abb.:12

Plasmazellen in % (1% $\pm$ 6 cm)



Tab.13

Anzahl der Lymphozyten in %

		Kontrolle			Zusatz		
Fall	o h	24 h	48 h	72/96 h	24 h	48 h	72/96 h
1	1,02	0,99	0,44	0,54	0,63	0,73	1,03
2	1,57	1,54	0,99	0,60	4,43	0,78	0,0
3	2,30	3,86	4,20	2,68	3,30	1,67	3,68
4	3,70	3,70	3,20	3,70	2,34	4,05	4,17
5	6,43	6,42	2,01	3,10	2,08	2,55	2,53
Summe	15,02	16,51	10,84	10,62	12,78	9,78	11,41
Mittel	3,00	3,30	2,16	2,12	2,55	1,95	2,28

Abb.: 13

Lymphozyten in % (1% $\hat{=}$ 4cm)

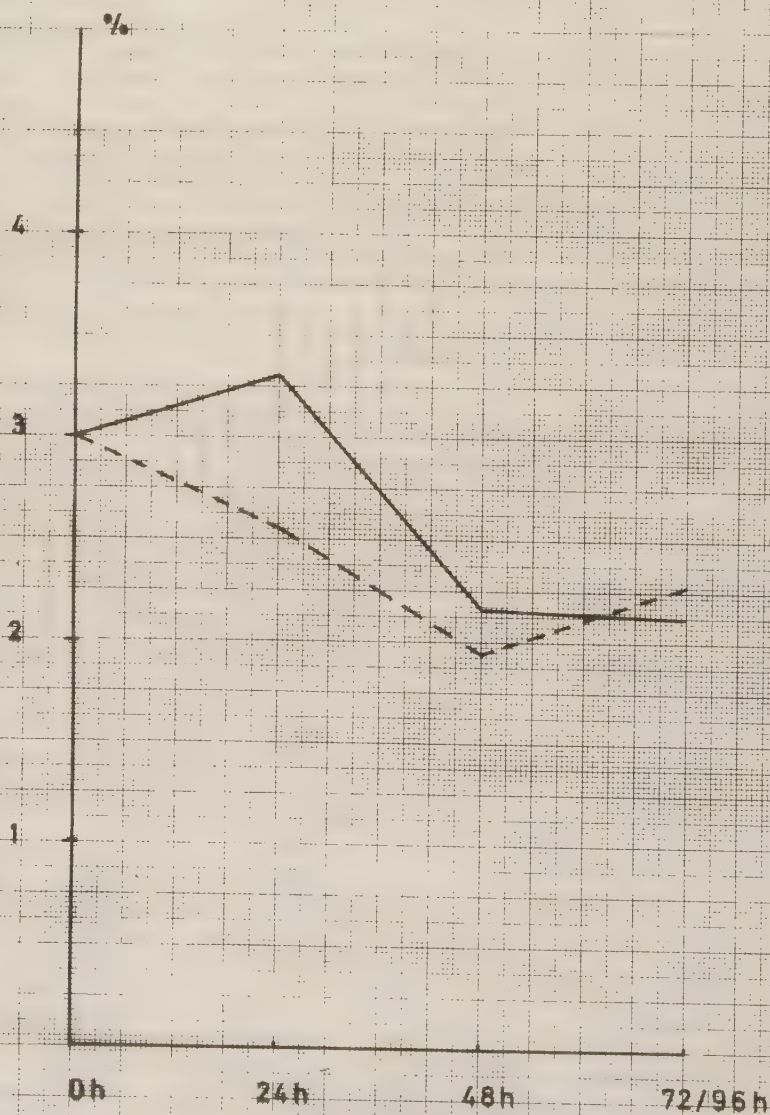
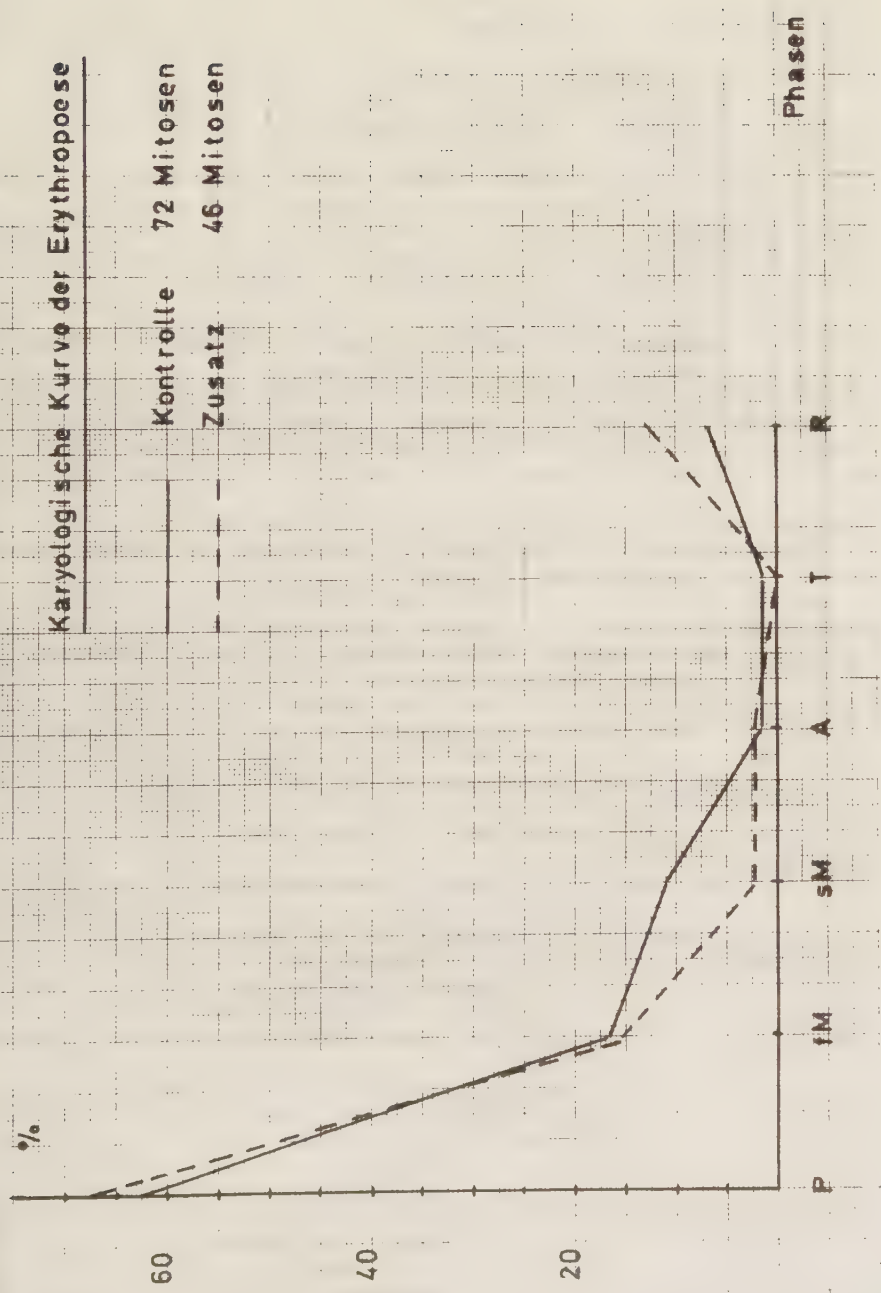


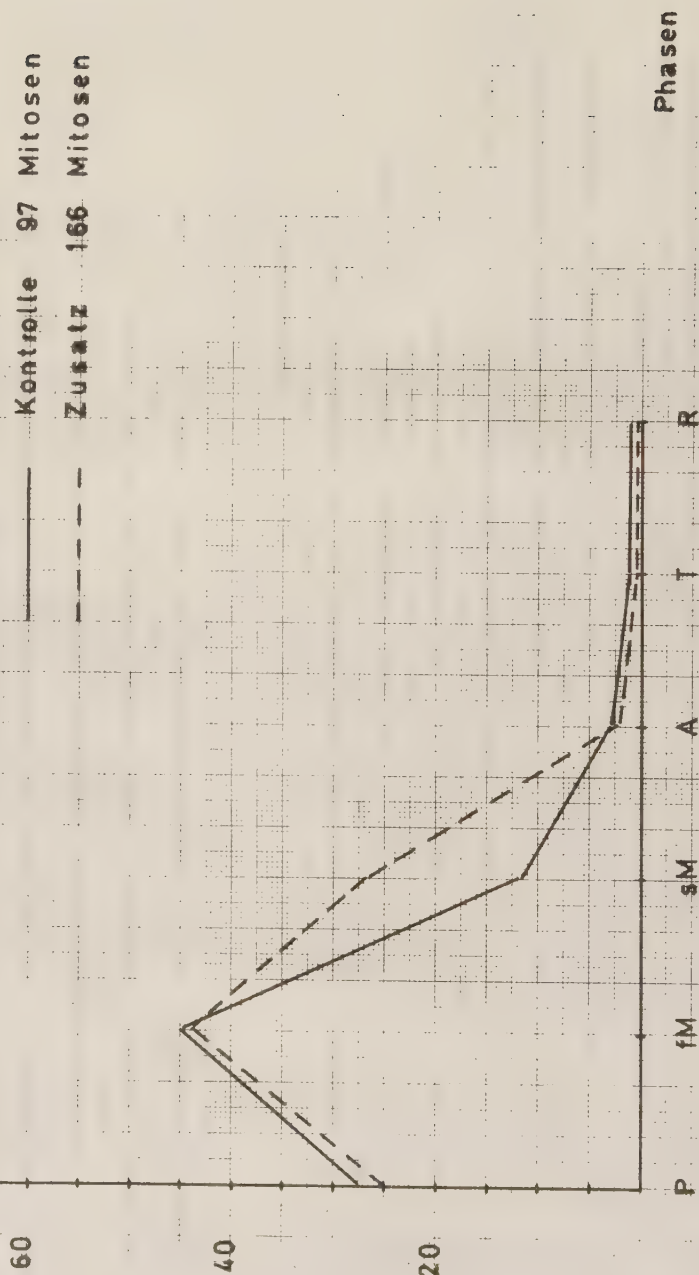
Abb. 14



%

Karyologische Kurve der Granulopoese

— Kontrolle 97 Mitosen
 --- Zusatz 166 Mitosen



Phasen

Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Resultate der vorliegenden Arbeit wurden nach dem χ^2 -Verfahren ausgewertet (2, 12). Es sollte entschieden werden, ob die Abweichung zwischen Kontroll- und Zusatzkultur zu einem bestimmten Zeitpunkt signifikant im Sinne der Statistik ist. Von Signifikanz soll in dieser Untersuchung dann die Rede sein, wenn der Wahrscheinlichkeitswert p kleiner wird als 0,01. Die χ^2 -Werte der statistischen Tabellen (Tab. 14 bis 34) wurden mit Hilfe eines Elektronenrechners ermittelt. Das zu einem bestimmten Wert für χ^2 gehörende p unter Berücksichtigung der jeweils entsprechenden Anzahl der Freiheitsgrade wurde graphischen Tabellen entnommen. Lag die absolute Zahl statistischer Ereignisse unterhalb einer bestimmten Grenze, wurde die Korrekturformel nach YATES angewandt.

Nach dem χ^2 -Verfahren wurden in dieser Arbeit geprüft:

1. Die roten Reihen aller Versuche einzeln und deren Mittelwerte
2. Die weißen Reihen aller Versuche einzeln und deren Mittelwerte

nach jeweils 24, 48, 72 bzw. 96 Stunden Bebrütungsdauer,

3. Das Verhalten einzelner Zellarten, dies betrifft
Phagozytierende Retikulumzellen
Kleine Retikulumzellen
Große Retikulumzellen

Gesamte Retikulumzellen

Plasmazellen

Lymphozyten.

Dabei wurden die zusammengefaßten Werte aller Versuche zugrunde gelegt.

4. Die Mitosen, die Fragestellung gilt den gesamten Mitosen aller Versuche in der Erythropoese und in der Granulopoese.

In den Tabellen 14 bis 34 sind die beobachteten absoluten Zellzahlen angegeben und zusätzlich die Werte, die sich aus dem Ausdruck

$$\frac{(B-E)^2}{E}$$

ergeben, (B = Beobachtungswert, E = Erwartungswert). Die Summe dieser Werte ist identisch mit dem χ^2 der entsprechenden Zellreihe.

Der Index eines χ^2 steht für die Anzahl der Freiheitsgrade.

Tab.14

	Controlled	agents	$\frac{(\sum E)^2}{n}$	stat. value/unit
FD	2	11	0,121	<u>24 h:</u> $P < 10^{-10}$
ED	253	121	4,881	
LD	492	1012	12,511	
SD	3	52	12,111	
rd	50	23	1,517	
Summe	10	1242	$\chi^2 = 121,87$	<u>40 h:</u> $P < 10^{-10}$
FD	17	26	0,229	<u>46 h:</u> $P = 0,05$
ED	72	117	1,263	
LD	100	61	0,007	
SD	73	46	0,015	
rd	10	11	1,011	
Summe	16	50	$\chi^2 = 11,22$	<u>48 h:</u> $P < 10^{-10}$
FD	11	12	0,005	<u>52 h:</u> $P < 10^{-10}$
ED	26	17	0,009	
LD	21	11	0,011	
SD	15	11	0,011	
rd	1	11	0,011	
Summe	10	10	$\chi^2 = 0,04$	<u>54 h:</u> $P < 10^{-10}$

Teil 1

Tab.15

... Tabelle ...

Ballart	Kontrolle	Einsatz	$\frac{(E-E)^2}{E}$	Stat. Ergebnis, Zeit
bl	13	10	0,031	24 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
br	297	106	0,046	
gl	297	106	13,034	
br+gl	594	212	29,222	
br+gl	132	61	27,500	
gl	132	61	11,298	
gl	113	52	3,557	
gl	113	52	3,400	
gl+br	131	44	12,281	
gl+br	131	44	7,056	
Summe	1136	777	10,316	
			$\chi^2_s = 149,033$	

bl	11	0,142	48 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
br	44	0,132	
gl	206	2,345	
br+gl	250	77,722	
br+gl	73	7,202	
gl	73	3,732	
gl	71	2,665	
gl	71	2,471	
gl+br	91	1,143	
gl+br	91	1,060	
Summe	1069	29,797	
			$\chi^2_s = 240,16$

bl+br	55	24,27	72 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
gl	246	1,507	
br+gl	301	0,118	
br+gl	5	0,020	
gl	5	5,802	
gl	44	4,122	
gl+br	77	0,220	
gl+br	77	1,551	
Summe	301	5,066	
			$\chi^2_4 = 16,190$

Teil 2

Erythropoese

Tab.16

	Kontrolle	Zusatz	$\frac{(E-O)^2}{E}$	Stat. ergebnis/Zeit
FE	25	64	3,036 1,903	<u>24 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
LE	205	163	1,419 2,105	
DE	155	123	0,124 1,010	
OE	48	52	2,302 2,415	
RE	372	156	10,170 15,034	
Summe	835	562	$\chi^2 = 116,918$	
FE	16	57	3,712 5,597	<u>4 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
LE	253	158	1,121 16,360	
DE	366	113	42,641 27,171	
OE	56	42	1,225 1,110	
RE	214	534	54,001 47,450	
Summe	695	1012	$\chi^2 = 113,002$	
FE	20	13	0,907 0,011	<u>24 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
LE	62	33	66,474 42,021	
DE	130	229	2,112 1,236	
OE	26	36	11,125 21,140	
RE	304	617	15,307 11,127	
Summe	502	1232	$\chi^2 = 197,113$	

Tab.17

Zellart	Kontrolle	Zusatz	$\frac{(\bar{x}-\bar{y})^2}{n}$	Stat. Ergebnis/Zeit
M1	50	52	1,742	<u>24 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
Iro	204	211	1,515	
			<u>3,363</u>	
M1	553	647	2,276	
			<u>0,051</u>	
Iro+et	20	249	0,044	
			<u>33,667</u>	
Stb	29	101	29,295	
			<u>0,379</u>	
Seg	130	33	0,220	
			<u>2,631</u>	
on	21	20	<u>2,380</u>	
			<u>1,437</u>	
			<u>1,351</u>	
Summe	116	1363	$\chi^2 = 103,060$	

M1	18	11	0,000	<u>48 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
Iro	400	88	0,000	
			<u>32,2950</u>	
M1	447	321	52,140	
			<u>1,566</u>	
Met	23	103	2,523	
			<u>38,605</u>	
Stb	23	67	62,329	
			<u>16,023</u>	
Seg+Mon	121	100	25,877	
			<u>1,062</u>	
			<u>1,714</u>	
Summe	1114	690	$\chi^2 = 234,149$	

M1+Iro	37	69	15,436	<u>26 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
			<u>29,804</u>	
M1	690	352	0,045	
			<u>0,037</u>	
Met	44	40	0,037	
			<u>4,445</u>	
Seg+Mon	224	59	7,567	
			<u>14,601</u>	
Summe	1060	549	$\chi^2 = 74,360$	

Tab.18

	Controllato	Insedi.	$\frac{(n-1)}{2}$	Sept. Antracite/colt
FE	1	22	0,003 0,601	<u>24.1.:</u> $F < 10^{-7}$ significant
bE	93	152	4,055 1,262	
rE	163	230	6,925 2,194	
oE	121	12	3,014 1,000	
rE	479	366	5,454 5,665	
Sum.e	937	902	$\chi^2 = 40,131$	

FE	22	46	3,045 3,104	<u>11.11.:</u> $F < 10^{-10}$ significant
bE	32	99	16,141 15,507	
rE	23	232	24,301 23,126	
oE	66	124	1,007 1,507	
rE	427	248	47,601 45,126	
Sum.e	710	730	$\chi^2 = 1,5,922$	

FE	21	23	0,232 0,174	<u>27.11.11.:</u> $F < 10^{-10}$ significant
bE	7	11	1,117 12,117	
rE	25	113	11,222 9,227	
oE	51	110	11,000 1,000	
rE	100	100	1,000 1,000	
Sum.e	623	357	$\chi^2 = 75,60$	

Koll. Z

Tab.19

Granulose

allert	ontrolle	usatz	$\frac{(n-k)^2}{E}$	Stat. Ergebnis/Zeit
Bl1	26	36	1,276	<u>24 h:</u> $P < 10^{-5}$ signifikant
Pro	200	200	1,527	
			1,402	
			2,306	
My1	464	365	1,621	
			1,311	
Arm+let	77	71	0,015	
			0,016	
Stb	91	74	0,179	
			0,200	
SeC	141	71	5,807	
			6,265	
Ion	51	22	0,013	
			0,015	
Summe	1051	462	$\chi^2 = 16,447$	

Bl1	26	17	0,593	<u>48 h:</u> $F = 0,0007$ signifikant
			0,569	
Pro	153	100	0,021	
			0,592	
My1	439	431	0,390	
			0,374	
Arm+let	120	136	5,954	
			5,715	
Stb	226	135	1,031	
			0,209	
SeC	146	163	0,188	
			0,180	
Ion	19	11	1,262	
			1,211	
Summe	1126	1173	$\chi^2 = 23,605$	

Bl1	29	45	5,337	<u>72 h:</u> $P < 10^{-810}$ signifikant
			0,003	
Pro	79	50	0,123	
			0,135	
My1	286	514	70,360	
			117,432	
Arm+let	331	121	13,206	
			19,502	
Stb	339	65	30,532	
			57,776	
SeC+Ion	727	51	18,559	
			17,521	
Summe	1211	61	$\chi^2 = 114,710$	

11.4

cythraiose

Tab.20

	controllé	usato	$\frac{\chi^2}{E}$	Stat. significatività
	42	50	1,113 1,256	H_0 : $P = 10^{-10}$ significativo
	336	151	10,267 9,120	
	309	232	11,323 10,135	
	221	131	13,303 13,290	
	431	780	43,101 41,895	
totale	1319	1379	$\chi^2 = 15,723$	

	23	1	0,766 1,163	H_0 : $P < 10^{-10}$ significativo
	63	52	1,167 2,558	
	159	64	15,090 17,396	
	100	45	10,217 11,073	
	413	553	15,005 16,949	
totale	721	732	$\chi^2 = 93,49$	

	15	1	0,001 0,079	H_0 : $P < 10^{-10}$ significativo
	11	31	1,496 1,135	
	57	21	7,371 6,704	
	25	24	0,000 0,000	
	51	311	0,10 0,107	
totale	109	100	$\chi^2 = 17,13$	

Fall 4

Tab. 21

Kontrollprozess

Teilart	Kontrolle	Satz	$\frac{(E-E)^2}{n}$	Stat. Ergebnis/Zeit
Nbl	36	2	0,033	<u>24 h:</u> $P = 0,0005$ signifikant
Pro	110	108	0,037	
			0,031	
			2,034	
	232	186	0,850	
			0,722	
12. lot	1	33	0,329	
			0,265	
13. lot	77	105	3,691	
			4,103	
14. lot	64	24	0,743	
			7,112	
15. lot	12	22	0,309	
			0,343	
Gesamt	618	556	$\chi^2 = 21,24$	

Nbl	36	19	0,333	<u>4 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
Pro	158	47	0,727	
			31,700	
Nbl	457	554	30,981	
			3,649	
			3,567	
12. lot	70	21	0,313	
			0,311	
13. lot	187	225	1,359	
			1,328	
14. lot	72	32	1,612	
			0,939	
15. lot	46	51	0,077	
			0,077	
Gesamt	1035	1059	$\chi^2 = 81,027$	

11. lot	94	15	31,920	<u>72 h:</u> $P < 10^{-10}$ signifikant
			31,226	
12. lot	100	10	31,16	
			21,412	
13. lot	40	20	0,314	
			0,26	
14. lot	23	13	56,74	
			21,054	
15. lot	112	236	18,11	
			15,027	
Gesamt	693	772	$\chi^2 = 252,107$	

Teil 5

Tab.22

erythrocytose

	Kontrolle	Zusatz	$\frac{(n-E)}{E}$	Stat. Ergebnis/Zeit
E	13	130	5,349 5,391	24 h: $P < 10^{-5}$ signifikant
E	124	157	2,010 2,076	
E	115	114	0,000 0,000	
E	56	53	0,030 0,010	
E	264	193	6,098 7,053	
Summe	642	637	$\chi^2 = 28,292$	
E	40	11	1,01 1,07	48 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
E	53	103	15,000 16,110	
E	64	95	5,011 6,018	
E	37	42	0,119 0,276	
E	150	232	16,992 20,227	
Summe	644	541	$\chi^2 = 92,114$	
E	52	31	1,320 1,502	72 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
E	111	107	0,007 0,007	
E	142	146	0,03 0,040	
E	55	29	2,000 3,153	
E	157	111	0,211 0,510	
Summe	517	424	$\chi^2 = 15,500$	

Tab. 23

Fall 5

Granulose

Zellart	Kontrolle	Ausatz	$\frac{(O-E)^2}{E}$	Stat. Ergebnis/Zeit
bl+iro	133	172	0,501	24 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
yl	140	140	0,433	
			19,119	
			16,520	
arm+ket	169	171	0,16	
			0,706	
stb	267	270	0,755	
			0,652	
leg	158	199	38,950	
			33,558	
on	36	42	0,000	
			0,000	
Gesamt	1213	1403	$\chi^2_s = 112,106$	

bl+iro	127	118	0,204	48 h: $P < 10^{-6}$ signifikant
yl	547	550	0,278	
			0,039	
			0,030	
st	105	218	1,017	
			0,295	
stb	289	189	11,743	
			11,432	
leg	146	235	9,528	
			9,316	
on	29	43	1,222	
			1,195	
Gesamt	1323	1353	$\chi^2_s = 47,143$	

bl+iro	43	68	0,010	72 h: $P < 10^{-10}$ signifikant
yl	364	540	0,012	
			5,015	
ket	239	70	41,702	
			25,101	
stb	272	33	30,732	
			68,053	
leg	21	149	1,020	
			11,936	
			14,216	
on	21	14	0,104	
			0,244	
Gesamt	1060	90	$\chi^2_s = 208,241$	

Mittelwerte
pythronoese

Tab. 24

	kontroll	Ansatz	$\frac{(B-D)}{S}$	Stat. Ergebnis/Leit
BS	100	517	0,157 0,104	<u>Chai:</u> $P < 10^{-10}$ significant
bE	111	750	17,100 15,611	
PE	1012	1760	75,510 69,295	
oE	520	370	0,01 0,009	
re	1606	1500	0,136 0,375	
Sum	4341	4243	$\chi^2 = 20,500$	

BS	123	100	11,300 12,142	<u>4 h:</u> $P < 10^{-5}$ significant
bE	403	504	0,110 0,114	
pE	1406	1200	3,115 3,17	
oE	340	330	0,024 0,025	
re	1604	1505	0,026 0,027	
Summe	3976	3537	$\chi^2 = 50,804$	

BS	110	104	1,000 0,007	<u>2226 h:</u> $< 10^{-10}$ significant
b	775	100	0,01 0,01	
	1330	1370	0,170 0,11	
o	350	103	1,501 0,00	
re	2314	417	0,100 0,10	
Summe	4569		$\chi^2 = 100,000$	

Mittelwerte

Tab.25

Granulorose

zellart	Kontrolle	Zusatz	$\frac{(N-E)^2}{E}$	Stat. Ergebnis/Zeit
Mbl	105	155	2,046	<u>24 h:</u> P = 0,0002 signifikant
Pro	1025	877	2,071	
			4,076	
			4,934	
Myl	2147	2162	0,192	
			0,194	
Irm	18	29	1,345	
			1,262	
Met	523	606	5,547	
			7,590	
Stb	647	591	0,947	
			0,958	
Seg	618	620	0,035	
			0,036	
Mon	120	121	0,012	
			0,012	
Summe	5203	5141	$\chi^2 = 26,164$	

Mbl	39	62	2,416	<u>48 h:</u> P < 10 ⁻¹⁰ signifikant
			2,522	
Pro	574	717	4,633	
			4,837	
Myl	2596	2476	0,011	
			0,011	
Irm	13	9	0,276	
			0,288	
Met	472	686	24,132	
			25,194	
Stb	501	725	0,596	
			0,622	
Seg	703	636	0,532	
			0,555	
Mon	115	117	0,103	
			0,107	
Summe	5667	5428	$\chi^2 = 66,844$	

Mbl	63	79	2,747	<u>72/96 h:</u> P < 10 ⁻¹⁰ signifikant
			2,811	
Pro	271	293	4,495	
			5,417	
Myl	2251	2340	26,522	
			31,261	
Met	738	363	30,879	
			37,211	
Stb	704	540	6,221	
			12,269	
Seg	572	535	0,232	
			0,279	
Mon	0	41	3,910	
			4,507	
Summe	5112	5522	$\chi^2 = 222,567$	

Tab. 26

phagozytierende Retikulumzellen

24 h	n	E_n	$\frac{(O_n - E_n)^2}{E_n}$	$\frac{(O_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.209	14,5	7,5754	0,0030	$\chi^2 = 0,997$ $P = 0,008$ signifikant
Zusatz	10.455	3,5	3,4522	0,0030	

48 h

Kontrolle	10.370	0,5	1,1117	0,0003	$\chi^2 = 2,211$ $P = 0,13$ nicht signifikant
Zusatz	10.333	1,5	1,1115	0,0003	

72/96 h

Kontrolle	10.277	0,5	0,2563	0,0000	$\chi^2 = 0,517$ $P = 0,47$ nicht signifikant
Zusatz	10.101	1,5	0,3214	0,0000	

n = Gesamtzahl der beobachteten Zellen

B_n = Anzahl der beobachteten phagozytierenden Retikulumzellen
(korrigiert nach der Yates'schen Formel)

E_n = Erwartungswert der phagozytierenden Retikulumzellen

O_n = Anzahl der Zellen ohne phagozytierende Retikulumzellen

E_n = Erwartungswert der Zellen ohne phag. Retikulumzellen

Tab. 27

Kleine Retikulumzellen

24 h	N	E_k	$\frac{(E_k - E_k)^2}{E_k}$	$\frac{(E_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.209	78	2,9956	0,0260	$\chi^2 = 5,976$ $P = 0,014$ nicht signifikant
Zusatz	10.455	114	2,9252	0,0274	

48 h

Kontrolle	10.270	114	120,09	3,6827	$\chi^2 = 246,7$ $P < 10^{-10}$ signifikant
Zusatz	10.333	499	119,56	3,0602	

72/96 h

Kontrolle	10.277	316	65,741	3,3387	$\chi^2 = 139,3$ $P < 10^{-10}$ signifikant
Zusatz	10.103	669	66,374	3,3962	

N = Gesamtzahl der beobachteten Zellen

B_k = Anzahl der beobachteten kleinen Retikulumzellen

E_k = Erwartungswert der kleinen Retikulumzellen

B_n = Anzahl der Zellen ohne kleine Retikulumzellen

E_n = Erwartungswert der Zellen ohne kleine Retikulumzellen

Tab. 28

Apfe-Retikulumzellen

24 h	n	E_r	$\frac{(E_r - r)^2}{E_r}$	$\frac{(E_n - n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.209	45	0,3126	0,0015	$\chi^2 = 0,620$
Zusatz	10.455	54	0,3053	0,0014	$P = 0,42$
					nicht signifikant

48 h

Kontrolle	10.270	39	1,021	0,0069	$\chi^2 = 26,27$
Zusatz	10.333	98	13,012	0,0064	$P < 10^{-6}$
					signifikant

72/96 h

Kontrolle	10.277	100	0,1612	0,0016	$\chi^2 = 0,328$
Zusatz	10.103	99	0,1609	0,0016	$P = 0,56$
					nicht signifikant

n = Gesamtzahl der beobachteten Zellen

 E_r = Anzahl der beobachteten großen Retikulumzellen E_n = Erwartungswert der großen Retikulumzellen n = Anzahl der Zellen ohne große Retikulumzellen E_n = Erwartungswert der Zellen ohne große Retikulumzellen

Tab. 29

Leichte Retikulumzellen

24 h	N	$\bar{x}_r$	$\frac{(\sum x_r - \bar{x}_r)^2}{\sum x_r}$	$\frac{(\sum x_n - \bar{x}_n)^2}{\sum x_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.02	15	1,4079	0,5213	$\chi^2 = 2,324$ $p = 0,015$
Ansatz	10.405	171	1,27	0,080	
					nicht signifikant
72 h					
Kontrolle	10.270	15	127,00	4,301	$\chi^2 = 263,05$ $p < 10^{-10}$
Ansatz	10.133	59	120,31	4,114	
					signifikant
72/96 h					
Kontrolle	10.111	15	11,771	3,5217	$\chi^2 = 110,90$ $p < 10^{-10}$
Ansatz	10.105	759	52,647	3,5722	
					signifikant

N = Gesamtzahl der beobachteten Zellen

$\sum x_r$ = Anzahl der beobachteten Retikulumzellen (Beobachtungswert)

$\bar{x}_r$ = Erwartungswert der Retikulumzellen

$\sum x_n$ = Anzahl der beobachteten Licht-Retikulumzellen

$\bar{x}_n$ = Erwartungswert der Licht-Retikulumzellen

Tab. 30

Plasmazellen

24 h	N	E_p	$\frac{(N_p - E_p)^2}{E_p}$	$\frac{(E_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.209	155	4,4279	0,0575	$\chi^2 = 8,865$ $P = 0,003$ signifikant
Zusatz	10.455	110	4,3237	0,0561	

48 h

Kontrolle	10.270	129	6,2067	0,1110	$\chi^2 = 13,99$ $P = 0,0002$ signifikant
Zusatz	10.333	197	6,0646	0,1103	

72/96 h					
Kontrolle	10.277	172	0,0990	0,0016	$\chi^2 = 0,203$ $p = 0,65$ nicht signifikant
Zusatz	10.103	161	0,1007	0,0016	

N = Gesamtzahl der beobachteten Zellen

E_p = Anzahl der beobachteten Plasmazellen

E_n = Erwartungswert der Plasmazellen

N_n = Anzahl der Zellen ohne Plasmazellen

E_n = Erwartungswert der Zellen ohne Plasmazellen

Tab. 31

Lymphozyten

24 h	n	E_1	$\frac{(E_1 - E_1)^2}{E_1}$	$\frac{(E_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	10.201	140	6,2006	0,171	$\chi^2 = 12,72$ F = 0,0005 signifikant
Gusatz	10.455	201	6,1025	0,128	

48 h

Kontrolle	10.210	220	0,4410	0,0092	$\chi^2 =$ 0,2002 F = 0,34 nicht signifikant
Gusatz	10.333	202	0,4105	0,0021	

72 h

Kontrolle	10.277	217	0,3106	0,0070	$\chi^2 = 0,646$ $F = 0,42$ nicht signifikant
Gusatz	10.105	190	0,3190	0,0071	

- n = Gesamtzahl der beobachteten Zellen
 E_1 = Anzahl der beobachteten Lymphozyten
 E_n = Erwartungswert der Lymphozyten
 O_1 = Anzahl der Zellen ohne Lymphozyten
 O_n = Erwartungswert der Zellen ohne Lymphozyten

Tab. 32

Gesamte Mitosen der Erythropoese

24 h	N	E_m	$\frac{(E_m - E_n)^2}{E_m}$	$\frac{(E_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	2.742	35	1,7538	0,0181	$\chi^2 = 3,283$ P = 0,071 nicht signifikant
Zusatz	3.235	26	1,4908	0,0153	

48 h					
Kontrolle	2.362	21	0,4203	0,0032	$\chi^2 = 0,858$ P = 0,32 nicht signifikant
Zusatz	2.302	15	0,4310	0,0033	

72/96 h					
Kontrolle	2.237	15	1,9214	0,0090	$\chi^2 = 3,695$ F = 0,055 nicht signifikant
Zusatz	2.447	7	1,7565	0,0082	

N = Anzahl der beobachteten teilungsfähigen Zellen

E_m = Anzahl der beobachteten Mitosen

E_n = Erwartungswert der Mitosen

B_n = Anzahl der Nicht-Mitosen

E_n = Erwartungswert der Nicht-Mitosen

Tab. 33Chi-Quadrat-Test der Unabhängigkeit

Gruppe	Bedingung	n_m	$\frac{(E_m - O_m)^2}{E_m}$	$\frac{(E_n - O_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	3. 1.	31	3,5665	0,0448	$\chi^2 = 7,239$ P = 0,007 signifikant
Zusatz	3. 3.	65	3,5749	0,0439	

4. 2. h

Kontrolle	3.3.	50	5,3106	0,0742	$\chi^2 = 11,51$ $P = 0,0008$ signifikant
Zusatz	3.350	72	5,7491	0,0601	

5. 2. 3. h

Kontrolle	3.323	22	0,7605	0,0061	$\chi^2 = 1,595$ = 0,21 nicht signifikant
Zusatz	3.375	39	0,8419	0,0066	

= Anzahl der beobachteten teilungsfähigen Zellen

 n_m = Anzahl der beobachteten Mitosen E_m = Erwartungswert der Mitosen n_n = Anzahl der Nicht-Mitosen E_n = Erwartungswert der Nicht-Mitosen

Tab. 34

eta hasen der Granulopoese

4 h	N	E_m	$\frac{(E_m - E_m)^2}{E_m}$	$\frac{(E_n - E_n)^2}{E_n}$	Stat. Ergebnis
Kontrolle	3.210	26	0,5173	0,0066	$\chi^2 = 1,6500$
Zusatz	3.009	36	0,3192	0,0067	P = 0,2
					nicht signifikant

3 h

Kontrolle	4.048	28	7,7258	0,0908	$\chi^2 = 15,3275$
Zusatz	3.950	65	7,9176	0,0931	P = 0,0001
					signifikant

2/96

Kontrolle	3.323	11	0,6517	0,0027	$\chi^2 = 1,3619$
Zusatz	3.075	16	0,7043	0,0029	P = 0,24
					nicht signifikant

N = Anzahl der beobachteten teilungsfähigen Zellen

E_m = Anzahl der beobachteten Metaphasen

E_m = Erwartungswert der Metaphasen

E_n = Anzahl der Nicht-Metaphasen

E_n = Erwartungswert der Nicht-Metaphasen

Zusammenfassung der Ergebnisse

Knochenmark von fünf Patienten wurde in getrennten Ansätzen über drei, bzw. vier Tage kultiviert, um den Einfluß von Fluocortolon auf die Zellreifung in vitro festzustellen. In zwei Fällen wurde zusätzlich die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase untersucht. Von den nach PAPPENHEIM gefärbten Präparaten wurden pro Ausstrich 2.000, zur Bestimmung der aLP-Aktivität jeweils 1.000 Zellen beurteilt. Insgesamt liegen der Untersuchung etwa 82.000 differenzierte Zellen zugrunde.

In den Versuchen 1,2,3 und 5 läßt sich eine annähernde Übereinstimmung dahingehend feststellen, daß eine Reifungshemmung der roten und der weißen Reihe eintritt, wenn Fluocortolon zugesetzt wird. Die Abweichungen der Ergebnisse aus den Zusatzkulturen von denen der Kontrollen sind bis auf die Resultate in der Erythropoese in Versuch 1 nach 48 Stunden Bebrütungszeit im oben definierten Sinne statistisch signifikant.

Die Regeneration der Erythropoese ist ebenfalls eingeschränkt, die Mitoseindices liegen aber nicht signifikant niedriger als in den Kontrollansätzen. Dagegen wurde bei den Mitoseindices der Granulopoese eine signifikante Erhöhung in den Zusatzkulturen nach 24 und 48 Stunden Bebrütungszeit gefunden, ohne daß die karyologische Kurve verändert wurde. Damit ist für die Granulopoese trotz der Reifungshemmung eine eindeutige Förderung der Regeneration durch Fluocortolon anzunehmen.

Die G/E-Indices zeigen in den Versuchen 1,2,3 und 5, daß der relative Anteil der weißen Zellen mit zunehmendem Alter der Kulturen kleiner wird. In den Fluocortolonkulturen tritt dies etwas deutlicher zutage als in den Kontrollansätzen.

In dem Versuch mit dem Knochenmark des mit Prednisolon vorbehandelten Patienten weicht das Ergebnis für die G/E-Indices von denen der übrigen Versuche ab.

Einzelne Zellarten wurden gesondert untersucht; ihr Verhalten in den Fluocortolonkulturen wurde statistisch überprüft.

Die Anzahl der beobachteten phagozytierenden Retikulumzellen war vergleichsweise gering. Eine signifikante Abweichung in den Zusatzkulturen im Sinne einer Abnahme konnte nur nach 24 Stunden Bebrütungsdauer festgestellt werden. Die kleinen Retikulumzellen vermehrten sich in den Fluocortolonkulturen von 48 Stunden Kulturzeit an relativ bezogen auf die Gesamtzellzahl, bei den großen Retikulumzellen konnte eine gleiche Entwicklung nur nach 48 Stunden nachgewiesen werden. Für die gesamten Retikulumzellen ergibt sich daraus eine signifikante Vermehrung in den Zusatzkulturen vom zweiten Kulturtag an. Die Plasmazellen zeigten ein indifferentes Verhalten, welches keine eindeutige Aussage zuläßt. Eine signifikante Abnahme liegt bei den Lymphozyten der Fluocortolonkulturen nach 24 Stunden vor.

Die aLP-Aktivität der Granulopoese erfuhr in den beiden Fällen, die daraufhin untersucht wurden, eine Zunahme in den Fluocortolonkulturen.

Diskussion

WEISSENFELS und BOLL (32) fanden bei Versuchen mit Triamcinolon und Prednisolonacetat, daß der proliferationshemmende Effekt des Triamcinolon weit über die zu erwartende 20 % stärkere Wirkung gegenüber dem Prednisolon bei der Entzündungshemmung hinausging. Aus diesem Grunde wurden weitere Glucocorticoidderivate in gleicher Dosis und unter gleichen Versuchsbedingungen hinsichtlich ihrer Auswirkung auf Proliferation und Regeneration untersucht. WILDE (33) fand mit Dexamethasonsulfat eine Proliferationsförderung der Erythropoese und eine geringe Regenerationsförderung der Granulopoese. Dieses Resultat wich von dem von WEISSENFELS und BOLL insofern ab, als Triamcinolon und Prednisolon keine Förderung sondern eine Hemmung der Regeneration in der Granulopoese verursacht hatten.

Bei unseren Versuchen mit Fluocortolon, welches einen dem Prednisolon äquivalenten entzündungshemmenden Effekt hat, fanden wir unter dem Einfluß des Corticoids in vier von fünf Ansätzen eine signifikante Reifungshemmung in der Erythro- wie in der Granulopoese. Die Regeneration der Erythropoese war ebenfalls herabgesetzt, worin wir, ebenso wie für die Reifungshemmung in beiden Reihen, eine Übereinstimmung mit WEISSENFELS und BOLL erzielten. Die Regeneration der Granulopoese, gemessen an den Mitoseindices, erfuhr dagegen eine signifikante Zunahme (Tab.33). Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den von WEISSENFELS und BOLL

gefundenen Resultaten mit Triamcinolon und Prednisolonacetat. Hierzu sei auf eine Untersuchung von RAPPAY (25) hingewiesen, der fand, daß Cortison die Wirkung des in der frühen Metaphase angreifenden "Spindelgiftes" Colchicin verstärken kann. Aus dem nahezu identischen Verlauf der karyologischen Kurve der Granulopoese (Abb.15) geht jedoch hervor, daß in unseren Zusatzkulturen eine echte Regenerationsvermehrung stattgefunden hat.

Die G/E-Indices zeigen in allen Versuchen mit Reifungshemmung unter Fluocortoloneinwirkung, daß der Anteil der granulopoetischen Zellen mit dem Alter der Kulturen relativ abnimmt. Im Zusammenhang mit der weiter unten erörterten Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase spricht dieses Ergebnis für eine ineffektive Granulopoese: Absterben der Zellen vor der Ausreifung.

Hinsichtlich der Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase stimmen wir mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen insofern überein, als die von uns verwendete Substanz Fluocortolon ebenso wie die von WEISSENFELS und BOLL (32) geprüften Stoffe Triamcinolon und Prednisolonacetat in den Zellen der Granulopoese gegenüber den Kontrollversuchen eine deutliche Aktivitätssteigerung bewirkte. Der Gipfel der Aktivität lag in unseren Versuchen bei 48 Stunden Kulturzeit, ein Resultat, das auch ohne Corticoidzusätze beobachtet wurde (DÜRING, 7). LÖFFLER (20) hat die Vermutung ausgesprochen, daß eine gesteigerte aLP-Aktivi-

tät der Ausdruck vermehrten Zelluntergangs sein könnte. Tatsächlich nimmt die Aktivität des Enzyms in den Kontrollkulturen mit dem Alter der Kultur zu; dagegen fallen die aLP-Indices in den Fluocortolonkulturen nach 48 Stunden ab. Diese Erscheinung läßt sich dahingehend deuten, daß die stark mit aLP beladenen Zellen inzwischen degeneriert sind und nicht mehr erfaßt werden, was die weiter oben bereits erwähnte Diskrepanz zwischen Regenerationsvermehrung und Reifungshemmung im Sinne einer ineffektiven Granulopoese erklären könnte.

Bei der Betrachtung einzelner Zellarten stellten wir fest, daß der relative Anteil der Retikulumzellen in den Zusatzkulturen zunimmt. Die Vermehrung der Retikulumzellen läßt sich allerdings nicht mit Sicherheit auf eine Wirkung des Corticoids zurückführen. Es könnte sich ebenso um eine scheinbare Zunahme handeln, da Retikulumzellen erfahrungsgemäß in Knochenmarkkulturen sehr stabil sind. Für diese Annahme spricht der späte Zeitpunkt des Anstieges innerhalb unserer Versuche. Theoretisch denkbar wäre auch eine Rückkehr differenzierter Zellen zur retikulären Form, etwa aufgrund des veränderten Milieus, jedoch fehlt hierfür jeder Beweis. Unsere Resultate stehen jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von WEISSENFELS und BOLL (32), die bei Zusatz von Triamcinolon und Prednisolonacetat eine signifikante Abnahme der retikulären Zellen feststellten.

Die Abnahme der Lymphozyten unter Fluocortolonzusatz stimmt teilweise mit den Ergebnissen überein, die andere Untersucher erzielt hatten. ELVES (9) und TORMEY (30) beobachteten in vitro eine Verminderung menschlicher Lymphozyten nach Prednisolon. WEISSENFELS und BOLL (32) sahen in vitro eine Abnahme durch Triamcinoloneinwirkung, während sie einen Rückgang nach Zusatz von Prednisolonacetat nicht feststellen konnten.

Das Verhalten der Plasmazellen in den von uns untersuchten Kulturen war zu uneinheitlich für eine Aussage.

Zusammenfassend stellen wir für unsere Versuche 1,2,3 und 5 eine Übereinstimmung mit den von WEISSENFELS und BOLL (32) unter gleichen Bedingungen und mit gleicher Konzentration der Zusätze vorgenommenen Untersuchungen fest, bis auf eine wesentliche Abweichung: Die Regeneration der Granulopoese verhält sich extrem gegensätzlich. Sie ist in unseren Versuchen in den Zusatzkulturen nach 24 und nach 48 Stunden signifikant erhöht und nicht wie bei WEISSENFELS und BOLL signifikant gehemmt. Auch WILDE (33) hat bei Zusatz von Dexamethasonsulfat eine Regenerationsförderung der Granulopoese feststellen können, die aber nicht so stark ausgeprägt war wie in unseren Versuchen. Die Besonderheit der von uns verwendeten Substanz Fluocortolon liegt also darin, daß sie eine Reifungshemmung in der Granulopoese verursacht bei gleichzeitiger signifikanter Zunahme der Regeneration.

Einen weiteren interessanten Aspekt bietet die von den übrigen Ergebnissen abweichende Reifungsförderung beider Reihen in Versuch 4 (Klinische Diagnose: Verdacht auf splenogene Markhemmung). Der Patient von dem das Untersuchungsmaterial entnommen wurde, hatte im Gegensatz zu den anderen Patienten als einziger vor der Sternalpunktion tagelang Prednisolon eingenommen, insgesamt 1,425 g. Am Tage der Punktion war die Therapie abgebrochen worden, weil sich klinisch Anzeichen eines Cushing-Syndroms feststellen ließen. Daraus kann geschlossen werden, daß im Knochenmark dieses Patienten eine bestimmte Konzentration von Prednisolon schon vorlag, als Fluocortolon zugesetzt wurde. In diesem Versuch ist die Reifung der roten wie der weißen Reihe hochsignifikant gegenüber dem Kontrollansatz gesteigert (Abb.5, Tab.22, 23). Die Regeneration der Granulopoese ist in der Fluocortolonkultur ebenfalls bis 72 Stunden gesteigert, die der roten Reihe unterscheidet sich nicht wesentlich von der Kontrollkultur.

Das abweichende Ergebnis des zuletzt erwähnten Versuchs wirft die Frage auf, warum hier eine Reifungsförderung statt einer Hemmung wie in den anderen Fällen eingetreten ist, oder allgemeiner, worauf die auch von anderen Autoren festgestellte Diskrepanz des Korticoideffektes in vivo und in vitro zurückzuführen ist. STRAUSS (27), z.B. stellte in vivo eine Proliferationsförderung fest, während viele andere Untersucher in vitro eine Reifungshemmung fanden. Theoretisch

wäre zu erwägen, ob die Konzentration des Corticoids eine Rolle spielt, ob also eine niedrige wirksame Konzentration einen anderen Effekt zeigt als eine Hohe. Dieser Annahme stehen die Ergebnisse der Untersuchungen von FRANKFURT (11), HUNSTEIN (16) und TAIFOUR (29) entgegen, die nachweisen konnten, daß für die Corticoide eine gleichsinnige Dosis-Wirkung-Relation besteht. Ein gleichgerichtetes Zusammenwirken der beiden Corticoide im abweichenden Versuch 4 im Sinne eines additiven pharmakologischen Effektes kann aufgrund der restlichen Ergebnisse ausgeschlossen werden. Denkbar wäre, daß fiktive Corticoidrezeptoren, etwa in der Zellmembran, durch das Prednisolon besetzt waren, so daß das später zugesetzte Fluocortolon seine Wirkung nicht mehr entfalten konnte.

Die zu Beginn der Untersuchung gestellte Frage, ob die Substanz Fluocortolon auf die Reifung und Regeneration menschlicher Knochenmarkzellen in Kultur unter definierten Versuchsbedingungen die gleiche oder eine andere Wirkung entfaltet wie Triamcinolon bzw. Prednisolonacetat, läßt sich aufgrund unserer Ergebnisse klar beantworten: In vier von fünf angestellten Versuchen stimmte die Wirkung von Triamcinolon bzw. Prednisolonacetat mit der des Fluocortolons bezüglich der Reifung überein. Im Hinblick auf die Regeneration ergibt sich ein gegensätzlicher Effekt, wie er schon bei Zusatz von Dexamethasonsulfat festgestellt worden war. Die regenerationsfördernde Wirkung des Fluocortolons

cortolons ist noch stärker ausgeprägt als die des Dexamethason.

Bezüglich der klinischen Anwendung der von uns verwendeten Endkonzentration ist hinzuzufügen, daß sie einer oralen Dauertherapie mit 20 mg/die entspricht.

Der gegensätzliche Effekt auf die Regeneration im Vergleich zu Triamcinolon und Prednisolon läßt weitere Untersuchungen, etwa mit höheren Konzentrationen, Kombinationen verschiedener Glucocorticoidderivate und parallele Versuche in vitro und in vivo wünschenswert erscheinen.

Zusammenfassung der Arbeit

Die Wirkung von Fluocortolon in einer Endkonzentration von $0,25 \mu\text{g/ml}$ wird an fünf menschlichen Knochenmarkkulturen untersucht.

Die Regeneration der Granulopoese wird unter der Einwirkung des Corticoids signifikant gefördert, die der Erythropoese gehemmt.

In vier Versuchen wird die Reifung der Erythropoese und der Granulopoese durch Fluocortolon signifikant gehemmt.

Die alkalische Leukozytenphosphatase (aLP), untersucht an zwei Fällen, zeigt eine deutliche Aktivitätszunahme in den Fluocortolonkulturen mit Gipfel nach 48 Stunden.

Die Retikulumzellen sind nach zwei Kulturtagen in den Fluocortolonpräparaten signifikant vermehrt, die Lymphozyten zeigen eine statistisch gesicherte Abnahme nach 24 Stunden.

Die Ergebnisse eines Versuchs mit dem Knochenmark eines mit Prednisolon vorbehandelten Patienten weichen von den restlichen ab; hier erfolgt eine Reifungsförderung in der Erythropoese und in der Granulopoese.

Literaturverzeichnis

1. AUTERHOFF, H.: Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie.
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH,
Stuttgart 1968.
2. BELITZ, H.-J.: Die Anwendung staistischer Methoden in der
Biologie. In: "Der Mathematikunterricht"
3/60, Klett, Stuttgart 1960.
3. BOLL, I. et al.: Hormoneinwirkung auf die Proliferations-
kinetik humaner Knochenmarkkulturen.
Klin. Wschr. 46:608, 1968.
4. BOLL, I.: Granulozytopoese unter physiologischen und
pathologischen Bedingungen. Springer,
Berlin - Heidelberg - New York 1966.
5. CARDINALI, G. et al.: Effect of light doses of cortisone
on bone marrow cell proliferation in the
Syrian hamster.
Cancer Res. 24:969, 1964.
6. COX, R.P., C.M. McLEOD: Hormonal induction of alkaline
phosphatase in human cells in tissue cultures.
Nature 190:85, 1961.
7. DURING, G.: Die zytochemische Reaktion der alkalischen
Leukozytenphosphatase in der Knochenmark-
kultur.
Diss. Berlin 1969.

8. EBERLEIN, W. et al.: The Complications of Steroid Treatment.
Pediatrics 40:279, 1967.
9. ELVES, M.W. et al.: The place of the lymphocyte in the
reticuloendothelial system: A study
of the in vitro effect of prednisolone
on lymphocytes.
Acta haemat. 32:100, 1964.
10. ERSLEV, A.J.: Erythropoietin and Testosterone in
vitro.
IX. Intern. Haemat. Kongr., Mexico
1962.
11. FRANKFURT, O.S.: Effect of hydrocortisone, adrenalin
and actomycin D on transition of cells
to the DNA synthesis phase.
Exp. Cell Res. 52:220, 1968.
12. FUCHS, G.: Mathematik für Mediziner und Biologen.
Springer, Berlin - Heidelberg -
New York 1969.
13. GERHARDS, K.P., M. GRENZMANN: Anwendung von Fluocortolon
bei entzündlichen und allergischen
Erkrankungen.
Münch. Med. Wschr. 109:249, 1967.
14. GÜNTHER, A.: Klinische Erfahrungen mit einer neuen
Gruppe morbo statisch wirksamer Steroide.
Ther. d. Gegenw. 104:378, 1965.

15. HAGGENMÜLLER, F.: Vorläufiger Erfolgsbericht über die Verwendung von Fluocortolon in der Kinderheilkunde.
Med. Welt 18 N.F., 1967, 2648.
16. HUNSTEIN, W., M. STREY: Zur Wirkung von Prednisolon auf die H_3 -Thymidin-Einbaurrate in Knochenmarkzellen von Ratten.
Klin. Wschr. 43:52, 1965.
17. KLEIBEL, F.: Einfluß von Anabolika auf die Tumoranämie. Anabolikum-Kolloquium 1963, Berlin, Medicus-Verlag 1964.
18. KAPLOW, L.S.: A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow.
Blood 10:1023, 1955.
19. KIESLICH, K., U. KERB: Chemische Struktur und Darstellung von Fluocortolon.
Fluocortolon - Symposion Berlin 1967, Saladruck, Berlin 1967.
20. LÖFFLER, H.: Diskussionsbeitrag zum Thema: Grundlagen der klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen. Cyto- und Histochemie in der Haematologie. IX. Freiburger Symposion. Springer, Berlin - Heidelberg - New York 1963.

21. MERKER, H., L. HEILMEYER: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukozyten.
Dtsch. Med. Wschr. 85:253, 1960.
22. MERKER, H.: Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen.
Cyto- und Histochemie in der Haematologie.
IX. Freiburger Symposion, Springer, Berlin - Heidelberg - New York 1963.
23. MÜLLER, D.: Die Wirkung von Prednisolon auf das menschliche Knochenmark und auf Leukämiezellen.
X. Europ. Haemat. Kongr. Straßburg 1965.
24. NOWELL, P.C.: Inhibition of human leukocyte mitosis by prednisolone in vitro.
Cancer Res. 21:1518, 1961.
25. RAPPAY, G. et al.: Effect of hydrocortisone on growth in vitro of fibroblast-like (F1) cells derived from rat organs.
Acta Med. Acad. Sci. Hung. 25:451, 1968.
26. RIESEN v., I., M. ALBERT: Einführung in die Zelldiagnostik des menschlichen Knochenmarks und Blutes. Walter de Gruyter u. Co., Berlin 1957.

27. STRAUSS, I. et al.: Mechanism of prednisolone-induced leukocytosis in man.
Acta Haemat. 33:40, 1965.
28. SZATMAR, E. et al.: Neutrophil granulocyte alkaline phosphatase activity after intravenous injection of synthetic ACTH.
XIII. Int. Haemat. Kongr.
München 1970, S. 41.
29. TAIFOUR, A.-H.: Autoradiographische Untersuchungen an Glucocorticoid-vorbehandelten Mäusefibroblasten-Kulturen.
Diss. Mannheim 1968.
30. TORMEY, D.C. et al.: Effect of prednisolone on synthesis of DNA and RNA by human lymphocytes in vitro.
Nature 213:281, 1967.
31. VALQUIST, B.: Corticosteroide und Erythropoese.
Mschr. Kinderheilk. 113:415, 1965.
32. WEISSENFELS, I., I. BOLL: Einwirkung von Corticoiden (Prednisolonacetat und Triamcinolon) auf menschliches Knochenmark in vitro.
Klin. Wschr. 51:907, 1973.
33. WILDE, D.: Einwirkung von Dexamethasonsulfat auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. Berlin 1974.

Frau Professor Dr. med. Irene Boll

danke ich herzlich für die freundliche Unterstützung bei der
Anfertigung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 1. Juli 1944 wurde ich als Sohn des Dipl.Ing. Robert Koch in Ravensburg geboren. Bis 1948 lebte ich in Eggmannsried, Württemberg, danach in Kirchheim in der Pfalz. Dort besuchte ich die Volksschule von 1950 bis 1954.

In Kehl am Rhein trat ich 1954 in das Gymnasium ein. Im Sommer 1959 verließ ich die Schule und fuhr bis März 1964 im Decksdienst der Handelsmarine zur See. Im November 1962 hatte ich die Matrosenprüfung in Hamburg abgelegt.

Von Herbst 1964 an bereitete ich mich am Hessenkolleg in Frankfurt am Main auf die Reifeprüfung vor, die ich im März 1967 bestand. Anschließend leistete ich 12 Monate Wehrdienst in der Bundesmarine.

Im Sommersemester 1968 begann ich das Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Am 9. August 1974 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Derzeit bin ich als Medizinalassistent an einem Berliner Krankenhaus beschäftigt.

